

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

MORRE Jean

1^{re} THESE. — PRODUCTION D'ALDHEHYDE MALONIQUE
PAR IRRADIATION DE GLUCIDES EN SOLUTION AQUEUSE

2^e THESE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

ACTION DES RADIATIONS IONISANTES SUR
LES CELLULES EMBRYONNAIRES

Soutenues le **05 DEC. 1967** devant la Commission d'examen.

M. KIRRMANN

Président.

Mlle FERRADINI

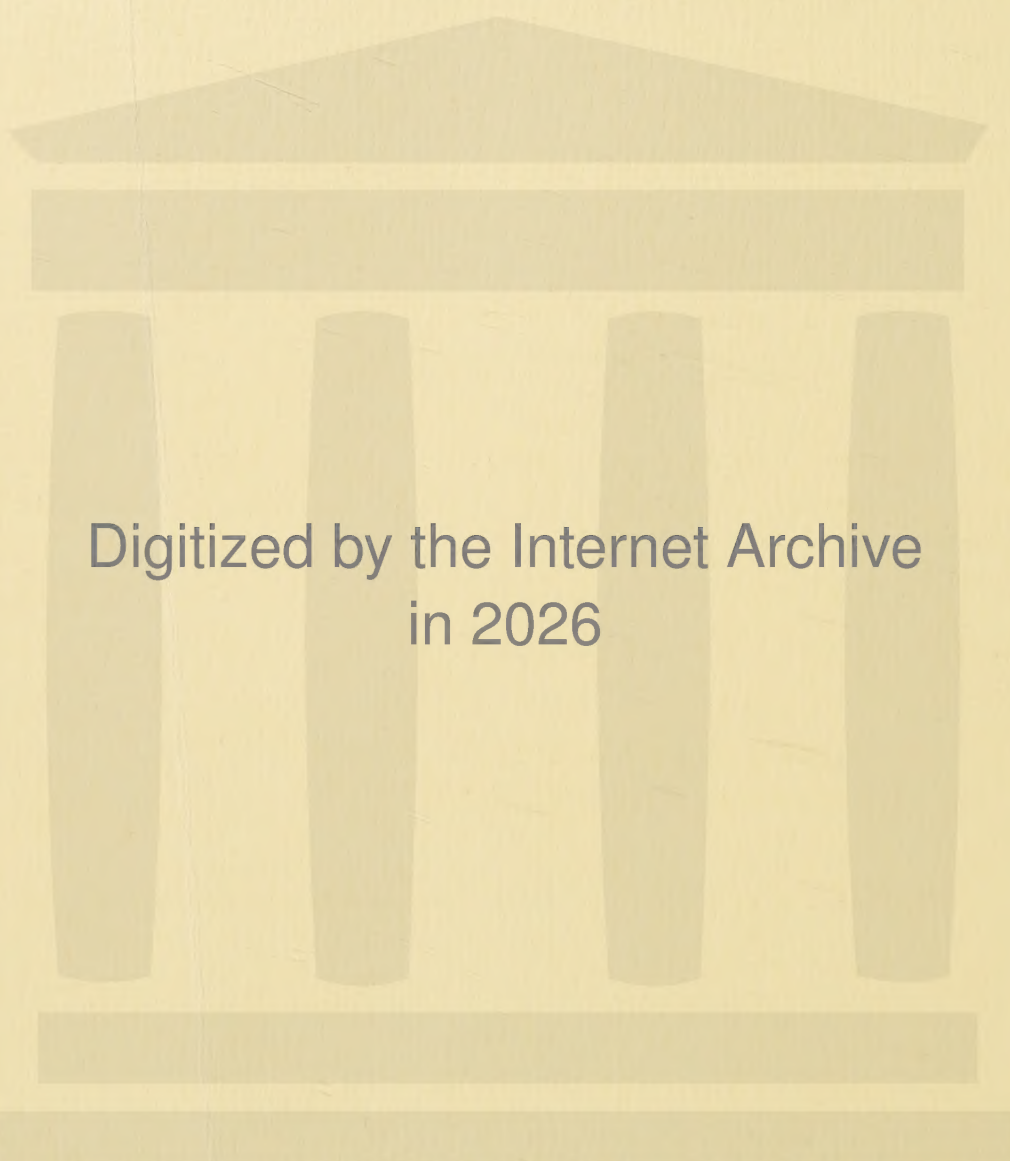
M. PASCAUD

} *Examineurs.*

PARIS
Imprimerie COPEDITH

70, Rue de Flandre

- 1967 -



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549028_0041

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

MORRE Jean

1^{re} THESE. — PRODUCTION D'ALDHEHYDE MALONIQUE
PAR IRRADIATION DE GLUCIDES EN SOLUTION AQUEUSE

2^e THESE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

ACTION DES RADIATIONS IONISANTES SUR
LES CELLULES EMBRYONNAIRES

Soutenues le

devant la Commission d'examen.

M. KIRRMANN

Président.

Mlle FERRADINI

M. PASCAUD

}

Examineurs.

PARIS
Imprimerie COPEDITH
70, Rue de Flandre
- 1967 -

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

JANVIER 1967

Le Doyen M. ZAMANSKY

GRASSE	T Evolution des êtres organisés	Mlle CAUCHOIS	T Chimie Physique
PREVOST	T Chimie organique	THELLIER	T Physique du Globe
WYART	T Minéralogie & cristallographie	PONCIN	T Mécanique générale
TEISSIER	T Zoologie	DUBREIL	T Arithmétique & Théorie des nombres
AUGER	T Physique quantique & relativité		
MONNIER	T Physiologie générale		
PIVETEAU	T Paléontologie	CAGNIARD	T Géophysique appliquée
ROCARD	T Physique E.N.S.	CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire
CARTAN	T Mathématiques E.N.S.	CUVILLIER	T Micropaléontologie
LAFFITTE	T Chimie générale		
N L....	T Géométrie supérieure	TRILLAT	Microscopie & diffraction électronique
COULOMB	T Physique du globe	WIEMANN	T Chimie organique & structurale
		VASSY	T Physique de l'atmosphère
CHRETIEN	T Chimie minérale	DESTOUCHES	T Théorie physique
BOCQUET	T Zoologie	AMIEL	T Chimie générale
KASTLER	T Physique E.N.S.		
EPHRUSSI	T Génétique	J.P. MATHIEU	T Physique optique
GAUTHERET	T Biologie végétale CPEM	COUTEAUX	T Cytologie
LUCAS R.	Recherches physiques	CHOQUET	T Théorie des fonctions & topologie
THOMAS A.	T. Biologie	FELDMANN	T Biologie végétale marine
MORAND	T Physique enseignement	JOST	T Physiologie comparée
SOLEILLET	T Physique CPEM	FORTET	T Calcul des probabilités & physique mathématiques
FORTIER	T Mécanique expérimentale des fluides	SCHWARTZ	T Calcul différentiel & intégral
DRACH	T Biologie maritime	EHOUARD	T Physiologie végétale
QUENEY	T Météorologie & dynamique de l'atmosphère	MALAVARD	T Aviation (technique aéronautique)
GALLIEN	T Embryologie	BRELOT	T Analyse supérieure

EICHHORN	T Botanique	NORMANT	T Synthèse organique
BENARD	T Chimie appliquée	YVON	T Théories physiques
DUGUE	T Statistique mathématique	COTTE	T Physique électricité
SOULAIRAC	T Psychophysiologie	DUBOIS J.E.	T Chimie organique physique
ULRICH	T Physiologie végétale appliquée	LANOTTE	T Zoologie E.N.S.
KIRRMANN	T Théories chimiques	OLMER	T Energétique générale
CHADEFAUD	T Botanique	GAUTHIER	T Mécanique appliquée
Mlle LE BRETON	T Physiologie de la nutrition	BARCHEWITZ	T Chimie physique
LELONG	T Application de l'analyse à la géométrie	BROSSEL	T Physique atomique
DEVILLERS	T Anatomie comparée	BUSER	T Physiologie comparée
EHRESMANN	T Topologie algébrique	CAMUS	T Physiologie végétale
FRANÇON	T Physique SPCN	CURIEN	T Minéralogie & cristallographie
GLANGEAUD	T Géographie physique, géologie dynamique	POSSOMPES	T Zoologie
GODEMENT	T Mathématiques MGP	PULLMANN	T Chimie quantique
PISOT	T Technique mathématiques de la physique	TEILLAC	T Physique nucléaire & radioactivité
ROCH	T Géologie	VILLE	T Econométrie
SCHATZMANN	T Astrophysique	FREYMAN	T Recherches physiques
TERMIER	T Géologie générale	ROLLET	T Chimie minérale
ZAMANSKY	T Mathématiques générales	Mlle JOSIEN	T Chimie SPCN
LENNUIER	T Physique M.G.P.	CHEVALLEY	T Géométrie algébriques & théorie des groupes
ROUTHIER	T Géologie appliquée	GERMAIN	T Mécan. Théo. des fluides
Mme TONNELAT	T Physique théorique	LUCAS G.	T Géologie
DIXMIER	T Mathématiques M.P.C.	ALLARD	T Chimie physique
SOUCHAY	T Chimie générale	BERTHELOT	T Physique des particules fondamentales
AIGRAIN	T Electrotechnique	BRICARD	T Météorologie
BRUSSET	T Chimie systématique	Mme ALBE-FESSARD	T Psycho-physiologie
LEVY	T Physique théorique des hautes énergies	M. JULIA	T Etude des molécules naturelles complexes
Mme CHAIX	T Chimie biologique	MAGAT	T Physico-chimie des rayonnements
Mme HUREL PY	T Biologie végétale CPEN	MONOD	T Chimie du métabolisme
PANNETIER	T Chimie générale I		

BRUN	T Mécanique des fluides I	DE POSSEL	T Analyse numérique
Mme DUBREIL	T Mathématiques (Agrégation)	CHARLOT	T Chimie analytique
Mme LELONG	T Mathématiques II E.N.S.	CHATELET	T Chimie CPEM
BELLAIR	T Géologie S.P.C.N.	MATTLER	T Physique SPCN
BOUSSIÈRES	T Radiochimie	AUBOUIN	T Géologie
Mme COUTURE	T Thermodynamique & mécanique	Mme BENOIT-GUEUTAL	T Physique nucléaire & radioactivité Biologie végétale marine Villefranche s/mer
FRANC	BIOLOGIE animale CPEM	BOUGIS	
SCHNELL	T Botanique tropicale	RIGAUDY	T Chimie SPCN
STOLKOWSKI	T Physiologie générale	COLLONGUES	T Chimie appliquée Biochimie
ACHER	T Chimie biologique	DUBERT	
BAUDOIN	T Biologie animale CPEM	NOZIERES	T Physique fondamentale Chimie organique
BEAUMONT	Biologie animale SPCN	CADIOT	
BLAMONT	Géophysique ionosphère	IVANOFF	T Océanographie physique
BOUREAU	T Botanique	FRANÇOIS	ZOOLOGIE
CURIE D.	Physique MGP	TALBOT	Génie chimique
DURAND DELGA	T Géologie	Mme NOUGAREDE	Botanique
HELLER	T Physiologie végétale	BRUHAT	T Mathématiques MPC Electricité générale
TORTRAT	T Calcul des probabilités	FOURNET	
CAILLEUX	T Géologie SPCN	DEHEUVELS	T Mathématiques propédeuti- que
MAGNAN	T Physique électricité	FURON	T Géologie SPCN
DAUDEL	T Mécanique ondulatoire	Mme GANS	T Génétique Biologie végétale CPEM
Mme CHOQUET	T Mécanique analytique et mé- canique céleste	GENEVES	
		HUPE	T Pétrographie
Mlle VEIL	T Physiologie générale	HOLLANDE	T Biologie générale
LWOFF	T Microbiologie	LIONS	T Analyse numérique
SIESTRUNCK	T Mécan. Phys. & expérimentale	MAITTE	T Chimie organique Géologie appliquée
CABANNES	T Mécanique théorique	NICOLAS	
CAIRE	T Géographie physique & géologie dynamique	PANIGEL	Biologie générale
COMOLET	T Mécanique des fluides	RAVIER	T Pétrographie
DELLOUE	T Physique de l'exosphère	MOREL F	T Physiologie comparée
HOUILLON	T Biologie animale	ROSEAU	T Mécanique théorique des fluides
OLIVIER	T Anthropologie	ROUBINE	T Electronique E.S.E.
SAMUEL	T Mathématiques (ENS Jeunes filles)	SILBER	T Chimie CPEM
		UEBERSFELD	T Electronique

THIRM	T Mécanique céleste	HERVE	T Mathématiques
ABELES	T Physique SPCN	Mme PECKER-WIMEL	T Astrophysique
AMAT	T Thermodynamique		
BALKANSKI	Physique M.P.C.1	TAVERNIER	Physique PC
LE CORRE	T Electricité	DURAND Michel	Biologie animale SPCN
NATAF	T Physique nucléaire & radio-activité	PASCAUD	Physiologie
ECHALIER	Biologie animale CPEM	Mme PETIT	Biologie animale CPEM
BARRAUD	T Physique CPEM	CAGNAC	Electricité
DARS	Géologie structurale & appliquée	FALK-VAIRANT	Physique nucléaire
CAMEFORT	Botanique (agrégation)	KRASNER	T Mathématiques
VICHNIEWSKY	T Mécanique industrielle	BENZECRI	T Statistiques
SIGWALT	Chimie SPCN	VINH MAU	Physique M.G.P.
BLAQUIERE	Automatique	DUQUESNES	Physique CPEM
BARUCH	Physique propédeutique	SCHUTZENBERGER	T Programmation
ARNOUS	T Physique théorique	TREMILLON	Chimie MPC
SLONINSKI	Génétique	FAYARD	Chimie MPC
MALLIAVIN	T Mathématiques propédeutique	BUVET	Chimie CPEM
GAUDEMAR	Chimie propédeutique	AUTHIER	Minéralogie et cristallographie
BROUSSE	T Mécanique théorique	BONNEFILLE	Electrotechnique
ROSCH	T Astronomie	Mme PUISEUX DAO	Biologie végétale
GUY	T Physique expérimentale	BERGER	T Géométrie supérieure
LAZARD	T Mathématiques MPC	Mlle LIBERMANN	T Mathématiques
MOREL P.	Physique MPC	DEDONDER	T Biologie cellulaire
ARSAC	Programmation	DUFOUR	T Electronique I.U.T.
LEFEBVRE	T Chimie MPC	SCHAAL	Chimie CPEM
BOK	Physique fondamentale	BAUCHOT	Anatomie comparée
CHAPEVILLE	Biochimie	LANCE	BV CPEM
BENOIT	Physique CPEM	GIRAUD	Botanique E.N.S.
RIO	Chimie CPEM	HULIN	Physique P C
JAUZEIN	Géologie ENS	VIGIER	Génétique
PREVOST G.	Biologie cellulaire	GUERN	Biologie végétale
FAVARD P.	Biologie animale CPEM	SLODZIAN	Physique CPEM
Mme CHARNIAUX-COTTON	Evolution des êtres organisés	LACOMBE	Logique mathématique
Mlle FICINI	Chimie CPEM	TAVLITZKI	Biologie cellulaire
LEQUEUX	Astronomie	ARVIEU	Physique CPEM
COHEN TANNOUDJI	Physique atomique	TAXI	B.A. CPEM
		COLLENOT	B.A. CPEM
		BASSELIER	Chimie propédeutique
		BADOUAL	Electronique I.U.T.

LE SECRETAIRE GENERAL,

R. POULLAIN

PRODUCTION D'ALDÉHYDE MALONIQUE
PAR IRRADIATION GAMMA DE GLUCIDES
EN SOLUTION AQUEUSE

•

S O M M A I R E

L'aldéhyde malonique a été identifié à certains pH dans les sucres irradiés par réaction à l'acide thiobarbiturique et est partiellement responsable de l'absorption en ultra violet de ces solutions.

Sa présence permet d'étudier en solution aqueuse tamponnée à pH 9,5 l'effet des rayonnements γ du cobalt 60 sur divers glucides et en particulier sur le galactose. Le dosage du sucre inattaqué mesuré par polarimétrie, et par étude du pouvoir réducteur est effectué parallèlement.

Le phénomène est modifié par addition de borate de sodium $B_4 O_7 Na_2 \cdot 10 H_2O$ qui forme des complexes avec des oses ; les composés sont étudiés et leur formule établie.

Un essai d'explication est alors fourni : pour une même dose, le rendement radiochimique du complexe est plus faible que celui de l'ose pur.

•

RESUMÉ

A la suite des travaux de Smith, Tinsley et Bubl (23), ainsi que ceux de Wertheim et Procter (16), qui ont attiré l'attention sur la réaction de l'acide thiobarbiturique avec les aliments irradiés, il était intéressant d'approfondir cette question. Patton et collaborateurs (19) avaient montré que le corps responsable était l'Aldéhyde Malonique (*en abrégé AM*) $\text{CHO} - \text{CH} - \text{CHO}$ ou $\text{CHOH} = \text{CH} - \text{CHO}$.

Ce composé est assez mal connu, car extrêmement réactif et instable. Sa caractéristique principale est la mobilité d'un atome d'hydrogène du carbone central et la facilité avec laquelle il donne des composés d'addition.

Son dosage spectrophotométrique est aisé :

— soit dans le visible par réaction avec l'acide thiobarbiturique : il y a production d'un composé rouge très intense qui présente un spectre caractéristique avec pic à 535 nm et "épaulement" entre 480 et 510 nm. Ce colorant formé a un coefficient d'extinction moléculaire très élevé :

$$5,6.10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ (Russel et Sinnhuber) (20)}$$

— soit dans l'ultra-violet où il y a un pic d'absorption à 245 nm à pH 1,5 ou à 268 à pH 9,5 la valeur de ϵ est aussi très importante : $1,296.10^4$ et $3.10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Mashio) (7).

Après ce rappel, il a été procédé à l'irradiation de glucides au centre PAGURE du CEN de Saclay, d'une activité de 10.000 curies. La dose d'irradiation a été uniformément de 0,5 Mrad. La dosimétrie a été effectuée en utilisant la méthode de Fricke.

Les divers facteurs qui peuvent modifier les conditions d'irradiation sont passés en revue, intensité ou débit de dose, température des solutions et atmosphère ambiante, force ionique et surtout pH. La stabilité de celui-ci pendant l'irradiation est primordial d'où l'importance de n'irradier que des solutions fortement tamponnées. Le pH choisi est de 9,5 dans les expériences rapportées ici.

Le premier problème à résoudre était d'établir la présence d'aldéhyde malonique.

Les auteurs qui se sont penchés sur l'irradiation des sucres Laurent (38), Bothner-by (40), Phillips (27) ne citent pas l'AM parmi les produits de dégradation, par contre les chercheurs qui ont étudié l'irradiation des aliments : Patton, Smith, Schmidt, Sinnhuber en font état.

En conséquence dans ce travail nous avons irradié à pH 9,5 un nombre important de glucides depuis l'aldéhyde glycérique jusqu'au raffinose. Parallèlement, les divers composés cités par les auteurs s'intéressant aux sucres ont été passés en revue : acide ascorbique, aldéhyde glycérique, dihydroxyacétone, glyoxal et AM. .

Seul de tous, l'aldéhyde malonique présente exactement les mêmes spectres en UV à pH 1,5 et 9,5 et dans le visible à 535 nm après réaction à l'acide thiobarbiturique (acide TB en abrégé) que les glucides irradiées. La réaction à l'acide TB est particulièrement précieuse car elle est spécifique de l'AM dans les conditions de l'expérience avec un spectre très particulier.

Dosant l'AM par la réaction à l'acide TB, un calcul à partir des coefficients d'extinction moléculaires permet d'évaluer le rôle de cet aldéhyde dans l'absorption en ultra-violet que présentent les sucres irradiés : à pH 9,5 ce pourcentage varie de 40 à 90 % en moyenne 70 %. Si l'irradiation a lieu à des pH inférieurs la production d'AM diminue ; à partir de pH 6 elle est nulle.

La deuxième partie de ce travail a trait à l'irradiation de solutions de glucides additionnées de borate de sodium. C'est en voulant améliorer la conservation des échantillons avant irradiation que l'auteur a découvert que la présence de ce sel diminuait dans de grandes proportions la production d'AM.

Comme on pouvait penser à priori que le phénomène pouvait s'expliquer par la présence de complexes entre oses et borate, il fallait étudier la formation de ces composés et commencer par exposer les deux méthodes employées pour établir leur formule.

La première méthode dite de Job (28) ou des variations continues consiste à étudier une propriété physique du composé, ici le pouvoir rotatoire, en fonction de mélanges croissants en sucres et décroissants en borate. Un calcul assez simple exposé dans ce travail montre que la formation du complexe coïncide avec le maximum (ou le minimum) des écarts entre le pouvoir rotatoire mesuré et celui présenté par le sucre s'il n'avait été additionné d'aucun produit.

La deuxième méthode : celle de Moore et Anderson (37) consiste à additionner à un des corps à concentration fixe, des quantités croissantes du deuxième. En mesurant de même les écarts du pouvoir rotatoire et en portant les résultats sur du papier log-log, la tangente à l'origine de la courbe donne la valeur du coefficient du composé variable. En renouvelant l'expérience, mais en inversant les corps, on trouve la valeur du deuxième coefficient.

Les mesures du pouvoir rotatoire ont été effectuées au polarimètre électronique basé sur l'effet Faraday : le flint dévie le plan de la lumière polarisée proportionnellement au champ magnétique appliqué donc au courant électrique qui traverse le solénoïde. La sensibilité de l'appareil est très grande et permet de déceler jusqu'à une millimole de galactose.

De ces essais, il a été reconnu qu'à pH 9,5 il n'existait qu'un complexe galactose-borate dans le rapport 1/1.

Ensuite il a été procédé à l'irradiation de nombreux oses et polyholosides pour vérifier que ce phénomène était bien général. Pour chaque glucide on a établi le rapport production d'AM du sucre boraté/production d'AM du même sucre pur. Sauf pour l'aldéhyde glycérique qui n'est pas un ose vrai, tous les sucres essayés présentent un rapport inférieur à 1.

Un essai d'explication basé sur la position des oxhydryles est proposé : le complexe se forme par action du borate qui établit un pont entre l'oxhydryle semi-acétal de l'ose en position α et le premier oxhydryle alcool secondaire voisin. Si l'ose ou si le polyholoside présente des -OH en position α et si le radical alcool secondaire est bien dégagé, le complexe se forme aisément : la production d'AM par irradiation se trouve atténuée. Dans les cas contraires, elle est peu modifiée.

Après cette étude générale, il a été procédé à un essai d'irradiation du galactose en faisant varier les divers facteurs un à un.

On a d'abord irradié du galactose en quantités croissantes soit pur, soit additionné d'une centimole de borate ou soit à l'état de complexe 1/1. C'est le complexe irradié qui produit le moins d'AM. Ensuite on a procédé à l'irradiation de galactose additionné de quantités croissantes de borate. L'effet est net au début puis se stabilise quand tout le galactose est complexé.

Puis on a irradié à des doses croissantes de 0,5 à 4 Mrads du galactose pur et boraté. En mesurant l'AM produit, on constate que le sucre boraté produit moins d'AM que le pur.

Un contrôle a été effectué en mesurant le sucre restant par polarimétrie ou par le pouvoir réducteur. Malgré des difficultés techniques, il y a une bonne corrélation entre les résultats.

Enfin pour terminer, le rendement de radiolyse G, c'est-à-dire le nombre de molécules élémentaires produites ou détruites pour 100 eV a été déterminé. Il est de 0,18 pour l'AM produit à partir du galactose pur irradié et de 0,12 pour le même boraté. Parallèlement pour le galactose détruit il est de 2,30 pour le sucre pur et de 1,59 pour le boraté.

En conclusion, il ressort de ce travail qu'aux pH basiques ou neutres l'irradiation des glucides produit de l'AM qui est responsable de l'absorption en UV que présentent ici ces composés.

L'addition de borate atténue ce phénomène : le rendement radiochimique en AM est minimum quand tout le sucre est complexé.



REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont d'abord à Monsieur le Professeur A. KIRRMANN de la Chaire de Chimie de l'Ecole Normale Supérieure et à Monsieur le Professeur M. PASCAUD de la Chaire de Nutrition de la Faculté des Sciences de Paris qui ont bien voulu accepter d'être président et examinateur de cette thèse.

Nous remercions aussi Mademoiselle Ch. FERRADINI rapporteur et Monsieur J. PUCHEAULT, maître de recherches à l'Institut du Radium et Madame MORAZZANI - PELLETIER qui nous ont guidé pour la réalisation de ce travail.

Nous ne devons pas oublier Mesdemoiselle les Professeurs E. LEBRETON et M. QUINTIN qui ont dirigé la première ébauche de ce travail et toujours avec beaucoup d'amabilité, ainsi que Monsieur le Professeur G. MOCQUOT.

Cette étude a été faite au Laboratoire de Radiobiologie du Service Vétérinaire de la Préfecture de Police.

Nous remercions Monsieur H. GASSE Chef du Service Vétérinaire au Ministère de l'Agriculture et Messieurs les Contrôleurs Généraux G. THIEULIN et D. BASILLE et le Vétérinaire Inspecteur en Chef J. PANTALEON qui nous ont conseillés et ont mis à notre disposition tout le matériel nécessaire.

Les irradiations ont été effectuées au CEN de Saclay Service de Physico-Chimie appliquée. Nous remercions Monsieur Pierre LEVEQUE, Madame STURME, Messieurs LAIZIER et LORIN et les techniciens du CEN de Saclay qui nous ont aidé et nous ont grandement facilité notre tâche.

Nous avons été très sensibles à l'amabilité de Monsieur le Professeur CADIOT et à celle de Madame S. CAUFMENT pharmacien qui ont mis à notre disposition le polarimètre électronique et l'auto-analyseur Technicon.

Nos remerciements vont aussi à la Société Conservatome Saint-Gobain Techniques Nouvelles où les premières expériences ont été réalisées.

P L A N

Pages

● INTRODUCTION	11
● PRODUCTION D'ALDÉHYDE MALONIQUE PAR IRRADIATION GAMMA EN SOLUTION AQUEUSE DE GLUCIDES PURS.	13
Etude et dosage chimique de l'aldéhyde malonique	13
1°) Chimie de l'aldéhyde malonique	13
Techniques expérimentales	15
1°) Dosage spectrophotométrique de l'aldéhyde malonique	15
2°) Conditions d'irradiation	18
3°) Facteurs modifiant les résultats de l'irradiation	20
Mise en évidence de l'aldéhyde malonique dans les solutions de sucres irradiés.	22
1°) Présence de l'aldéhyde malonique	22
2°) Recherches effectuées	22
3°) Résultats	23
4°) Composés responsables de l'absorption en ultra-violet	
Rôle de l'aldéhyde malonique	26
5°) Influence de la variation du pH	26
● EFFET DU BORATE DE SODIUM SUR L'IRRADIATION DES GLUCIDES.	31
Etudes du complexe Galactose-borate	31
1°) Méthode de Job	31
2°) Méthode de Moore et Anderson	36
3°) Détermination de $[\alpha] - [\alpha]$	41
4°) Calcul de K. Constante apparente de formation du complexe.	43
Irradiation de divers glucides en solution aqueuse à pH 9,5 avec adjonction de borate	44
Principe	44
Résultats	45
Effet de la position des oxhydryles	45
Irradiation des solutions galactose-borate	46
1°) Etude de l'aldéhyde malonique produit.	46
2°) Etude du galactose restant après irradiation	46
3°) Techniques	47
4°) Résultats : a) Aldéhyde malonique produit.	47
b) Galactose détruit	50
5°) Calcul du rendement radiolytique G.	51
● CONCLUSIONS	

INTRODUCTION

La conservation des aliments est un problème qui est toujours d'actualité. Aux siècles précédents, les hommes ont cherché à emmagasiner des réserves pour les jours de disette. Maintenant l'art de la conserve permet de prolonger et de régulariser la vente des produits périssables, donc d'avoir une importante action sur le marché. Le consommateur a ainsi sur sa table des produits périssables pendant une plus longue période et à meilleur prix.

Au cours des âges, diverses méthodes ont été employées pour la conservation des viandes et des produits de la pêche : depuis le séchage et le salage jusqu'aux techniques très modernes de l'appertisation et de la réfrigération.

Depuis quelques années, une nouvelle méthode a fait son apparition : c'est la radio conservation : les aliments protégés d'une réinfection ultérieure par une enveloppe protectrice sont soumis aux rayonnements gamma du cobalt 60 ou à un flux d'électrons. C'est une méthode qui est prometteuse, car elle permet de stocker ensuite les produits à la température ambiante donc de se libérer de la chaîne du froid. Les protéines ne sont pas coagulées comme cela a lieu avec la chaleur ce qui autorise les mêmes préparations culinaires que pour les produits frais.

Mais cette nouvelle technique de conservation, si elle détruit les germes responsables de la putréfaction, introduit aussi des modifications chimiques à l'intérieur de l'aliment. C'est pourquoi en tant qu'hygiénistes alimentaires, nous nous sommes penchés depuis de nombreuses années sur les réactions qui prenaient naissance au sein du muscle irradié.

Le muscle est un composé extrêmement complexe de protéines associées à des lipides et à des glucides. L'étude des modifications radiolytiques du muscle ne peut être tentée en l'état actuel de nos connaissances. Les nombreuses études effectuées à ce jour, ou bien approfondissent les phénomènes de radiolyse de l'eau ou de composés chimiques simples (48) ou bien essaient d'isoler les divers produits de dégradation qui prennent naissance dans les aliments (18).

Entre ces deux écoles, il semble qu'il y ait place pour une recherche intermédiaire qui porte sur les composants élémentaires des aliments : glucides, lipides, protides en solution aqueuse. L'étude qui va suivre est consacrée aux glucides qui sont les composés chimiquement les plus simples. Une recherche ultérieure profitant des données dégagées pour les glucides sera consacrée aux lipides et aux protides.

L'action des rayonnements a été mesurée par la production de l'aldéhyde malonique : une recherche effectuée à divers pH a montré que l'aldéhyde malonique n'apparaît qu'aux pH basiques, aussi ce travail a été effectué à pH 9,5.

D'autre part, de nombreux auteurs ont signalé que les sucres irradiés présentaient une forte absorption en UV ; cette propriété a été proposée pour identifier les jus de fruit irradiés (50) ; il ressort que c'est l'aldéhyde malonique qui, pour une large part, est responsable de ce phénomène.

C'est pour toutes ces raisons et parce que le dosage spectrophotométrique de l'aldéhyde malonique est aisé que celui-ci a été choisi pour juger de l'action des rayonnements sur les glucides. Une étude parallèle du sucre détruit a été effectuée par polarimétrie et par mesure du pouvoir réducteur.

Une analyse des viandes irradiées a montré que la production d'aldéhyde malonique était très diminuée quand on ajoutait à celles-ci du borate. C'est très fortuitement que nous avons découvert ce phénomène en irradiant des échantillons additionnés de borate de soude pour en assurer la conservation pendant le transport entre le laboratoire et le centre atomique qui était en province.

Quand l'étude des glucides a été entreprise, ceci a été repris et le même phénomène observé. D'ailleurs l'ion borate ajouté pour tamponner des solutions est connu pour introduire souvent des perturbations dans les mesures.

On sait qu'oses et borates donnent facilement des complexes. Le dosage de l'acide borique, en présence de mannite (51) est classique. C'est donc par la formation de complexes que le phénomène pouvait être expliqué pour les glucides et sans doute pour d'autres composés. En conséquence, la formule du complexe galactose-borate a été établie par les méthodes de JOB et de MOORE et ANDERSON, et, le coefficient apparent de dissociation calculé.

Cette recherche présente de l'intérêt, car les ions boratés en bloquant un certain nombre d'oxydryles modifient le phénomène : l'expérience montre que le rendement radiochimique d'un sucre pur est différent de celui du complexe boraté correspondant. C'est un premier pas vers une meilleure compréhension de l'action des rayonnements ionisants sur les glucides.

Enfin, tous ces essais ont été faits dans des solutions à fort pouvoir tampon comme le sont les milieux biologiques naturels. C'est un facteur important qu'il y avait lieu de respecter, car cette étude tend à reproduire ce qui se passe au sein du muscle irradié.

Divers glucides : oses, polyholosides, alcools..... ont été irradiés avec ou sans addition de borate ; le galactose a fait l'objet d'une recherche plus approfondie. C'est un ose simple à 6 atomes de carbone qui ne diffère du glucose que par la position de l'oxydryle sur le carbone 4 et constitue avec lui le lactose. Le galactose existe aussi dans les cérébrosides qui sont des lipides complexes où il est uni à un acide aminé et dans les galactanes présents dans un certain nombre de végétaux.

RAPPEL DES TRAVAUX ANTERIEURS :

En 1958, après étude de la réaction des denrées irradiées à l'acide thiobarbiturique pour y déceler l'aldéhyde malonique (en abrégé AM) et mise au point de la méthode au MBTH(1,34) ou 3-méthyl - 2 - benzo - thiazolone - hydrazone, nous avons tenté de modifier ces tests pour reconnaître un aliment irradié et le distinguer d'un autre altéré par une oxydation. Nous avons ajouté divers corps oxydants ou réducteurs : eau oxygénée, métavanadate d'ammonium, acide ascorbique, terre d'infusoire. Les premiers résultats ont été encourageants. Trouver un réactif aux aliments irradiés est un problème difficile, car l'action chimique des rayonnements n'a rien de spécifique. Il faudrait comme le signalait le Professeur MOCQUOT (2) découvrir un composé attaqué ou au contraire produit par les radiations ionisantes et seulement par elles. Cette réaction devrait être aussi facile que celle de la phosphatase qui permet de distinguer le lait cru du lait traité par la chaleur.

C'est à la suite de ces recherches que nous avons entrepris l'étude sur les glucides, qui fait l'objet de ce travail.

•

PRODUCTION D'ALDEHYDE MALONIQUE PAR IRRADIATION GAMMA EN SOLUTION AQUEUSE DE GLUCIDES PURS

Ce sont les travaux de Smith, Tinsley et Bubl (15 et 23) qui ont attiré l'attention des chercheurs sur la production d'aldéhyde malonique lors de l'irradiation des aliments. Patton et ses collaborateurs (19) avaient montré que la réaction de l'acide thiobarbiturique avec les corps gras oxydés était due à ce composé. Russel, Sinnhuber, YU par des méthodes de chromatographie sur papier (20) avaient contribué à l'identifier.

C'est pourquoi lors de l'irradiation des sucres, avons-nous cherché à mettre en lumière cet aldéhyde comme les travaux de Taufel et de Von Streuli (43 et 44) le laissaient prévoir.

Auparavant, il a semblé bon de faire un court rappel de la chimie et du dosage chimique de cet aldéhyde et d'exposer les techniques expérimentales qui nous ont permis d'aboutir à ces conclusions.

ETUDE ET DOSAGE CHIMIQUE DE L'ALDEHYDE MALONIQUE

1°) CHIMIE DE L'ALDEHYDE MALONIQUE

L'aldéhyde malonique (A.M.) bien que présent dans de nombreux processus biologiques a été peu étudié : il est difficile à isoler et instable d'où une grande difficulté pour fixer ses propriétés.

C'est Claisen (3) en 1903 qui le premier l'a préparé en solution en hydrolysant son diacétal qu'il avait préparé par action de l'acétal de l'aldéhyde propargylique sur l'alcool éthylique. Huttel (4) a obtenu le sel de sodium de l'A.M. cristallisé.

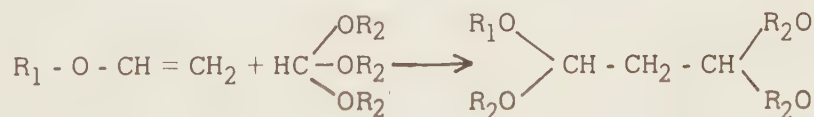
Enfin, c'est Sinnhuber et YU (5) (chimie alimentaire) Mashio et Kimura (6) (7) (propriétés physio-chimiques) Protopopova et Skoldinov (8) (préparation du sel de sodium) qui se sont le plus intéressés à ce composé si difficile à étudier.

SYNTHESE

● à partir d'un diacétal de l'aldéhyde malonique

On utilise l'un des 3 diacétals suivants :

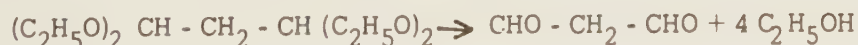
— le tétraéthoxy-1,1,3,3-propane, le éthoxy-I-triméthoxy-I,3,3-propane et le tétraméthoxy-I,1,3,3-propane, qui sont préparés industriellement en faisant réagir un éther vinylique avec l'éther orthoformique en présence d'un catalyseur tel que Al, Sn, Sb.



avec $R_1, R_2 = CH_3$ ou C_2H_5

En hydrolysant le diacétal en présence d'un acide on obtient l'A.M. et 4 molécules d'alcool.

Par exemple, avec le tétraéthoxy-1,1,3,3-propane, on a :

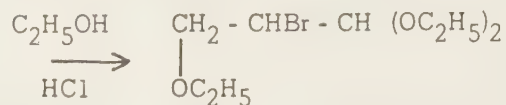


● à partir de l'acroléine

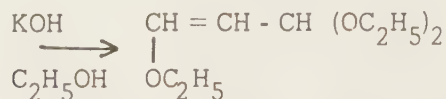
D'après Price et Moos (9) celle-ci est d'abord bromée :



puis traitée par l'alcool en présence d'un acide :



enfin par action de la potasse alcoolique :



On obtient le diacétal de l'aldéhyde propargylique qui, par hydrolyse donne l'A.M.

● à partir de la β -diméthylaminoacroléine

Il s'agit d'une synthèse récente due à Arnold et Sorm (10).

Le composé a pour formule : $(\text{CH}_3)_2\text{N} \text{CH} = \text{CH} - \text{CHO}$

Il est préparé par action du phosgène sur le diméthylformamide et l'acétal. Chauffé avec une solution de soude, il permet d'obtenir directement le sel de sodium de l'A.M.

PROPRIETES .

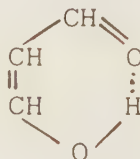
Le dialdéhyde malonique ou 1,3-propamedial a pu être isolé cristallisé en fines aiguilles transparentes. Il est hygroscopique. Il décolore les solutions de fuchsine acide et réduit le nitrate d'argent ammoniacal. Avec les sels de fer et l'acide thiobarbiturique il donne une coloration rouge intense.

Les solutions aqueuses présentent une absorption dans l'ultra-violet caractéristique (6). Elle change entre pH 3 et pH 7, au-dessous de pH 3, il y a une absorption à 245 nm ; au-dessus de pH 7, le maximum est à 268 nm avec déplacement progressif entre ces deux pH.

Ceci est dû au fait que l'A.M. existe sous deux formes : anionique et énolique. N. Bacon, W.O. George et B.H. Stringer (52).



Sanders et May ont montré la présence d'un pont hydrogène (45) entre l'oxygène aldéhydique et l'hydrogène énolique.



Les solutions acides d'A.M. sont très instables, à cause du carbone central non substitué. Les diacétals de l'A.M. sont plus faciles à utiliser, ainsi que les composés d'addition nitrés ou halogénés.

Les solutions basiques de l'A.M. sont plus stables car il y a formation d'un sel : l'A.M. possède un pouvoir acide non négligeable qui a été mesuré par Mashio et Kimura (7) avec une courbe de neutralisation nette :

pK - 4,6

Le sel de sodium de l'A.M. la β oxyacroleïne est obtenu d'après Propopova et Skoldinov (8) par hydrolyse acide du diacétal et neutralisation lente (3 à 4 heures) en solution refroidie avec la soude 5 N en prenant la phenolphthaleine comme indicateur. On concentre sous pression réduite. Le produit est dissous dans le méthanol et précipité par l'éther éthylique plusieurs fois.

Dosage de l'A.M. par voie chimique

● Par le soude :

On peut titrer l'A.M. en solution directement par la soude. Il faut effectuer un titrage sur une solution témoin avec une quantité d'acide égale dans le même volume d'eau pour tenir compte de l'acide ajouté pour hydrolyser le diacétal.

● Par l'iode :

On étudie la fixation de l'iode en milieu alcalin (11) suivant la méthode de Bougault (12) modifiée par Pauchard (13).

En ajoutant de l'iode en milieu alcalin il y a formation d'iodoforme, on acidifie le milieu et on dose l'iode en excès par le thiosulfate (7).



Cette réaction est très proche de celle présentée par l'aldéhyde acétique :



● Par l'acide périodique

P. Fleury J. Courtois et Collaborateurs (11) donnent un autre dosage par oxydation périodique.



On mesure la consommation de l'acide périodique, la variation de l'acidité et le dégagement de CO_2 .

TECHNIQUES EXPERIMENTALES

1°) DOSAGE SPECTROPHOTOMETRIQUE DE L'ALDEHYDE MALONIQUE

C'est la méthode de choix : à partir d'un échantillon étalon qui a été dosé par la soude ou l'iode, on trace le spectre d'absorption.

Pour une longueur d'onde correspondant à un maximum, on établit la courbe de la densité optique en fonction de la concentration pour juger des limites de la validité de la loi de Beer-Lambert.

$$\Delta = \epsilon c l \text{ ou } \Delta = \text{densité optique}$$

ϵ = coefficient d'extinction moléculaire
 c = concentration en moles/litre
 l = épaisseur de la cuve en cm.

ϵ est exprimé en $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, sa valeur dépend de la longueur d'onde et du solvant.

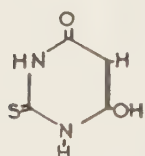
La mesure de Δ a été effectuée de 2 manières différentes :

- Par réaction colorimétrique de l'aldéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique.
- Par mesure directe en ultra-violet à 268 nm et à 245 nm.

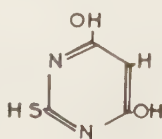
● Réaction avec l'acide thiobarbiturique

L'acide 2-thiobarbiturique (acide TB pour les auteurs de langue française, TBA pour les anglosaxons, TBS pour les allemands) ou 2-malonythiourée est préparé comme l'acide barbiturique, mais en partant d'une thiourée. Il sert à la synthèse du penthotal.

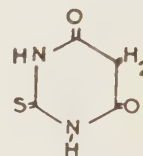
Ce réactif répond à 3 formes tautomères :



monoénolique



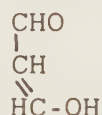
triénolique



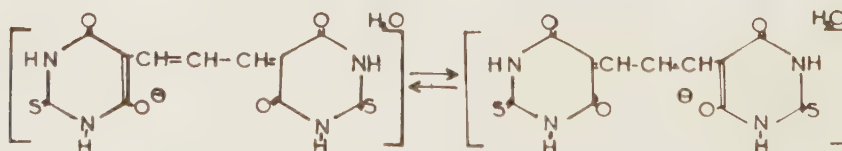
cétonique

La réaction acide TB - aldéhyde malonique a été très largement utilisée en bromatologie, soit pour l'évaluation du rancissement des beurres, des graisses et des huiles (14), soit pour l'étude des modifications subies par les aliments lors de leur stérilisation par les rayonnements ionisants (15) (16) (1). Le domaine d'emploi de cette méthode est comparable à celui de la réaction de Kreis au phloroglucinol (17).

D'après Percheron (21) l'aldéhyde malonique réagit sous sa forme énolique



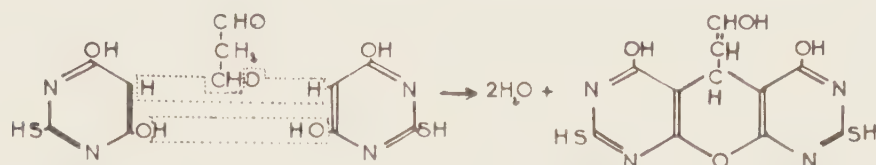
avec 2 molécules d'acide TB : une sous forme mono-énolique et une sous forme cétonique et donne aisément à chaud par condensation un composé fortement coloré en rose rouge d'après la formule suivante avec élimination de 2 molécules d'eau.



Le maximum d'absorption se fait à 535 nm d'où le nom de colorant acide TB 535 donné par Schmidt.

Le produit de la réaction a été étudié par Sinnhuber et Coll (20) et par Schmidt (14). Ce dernier propose d'en représenter la structure comme ci-dessus.

Mesnard et Devaux (22) pensent que la réaction est différente et que seule une fonction aldéhydique de l'A.M. réagit avec deux molécules d'acide TB sous sa forme triénolique.



Techniques de la réaction à l'acide Thiobarbiturique -

Pour les sucres, nous avons pratiqué le test de l'acide TB sur des solutions irradiées de la façon suivante :

— à 2 ml de solution, on ajoute 2 ml d'une solution fraîchement préparée d'acide TB à 0,72 % (P.V.) dans de l'acide trichloracétique à 15 % (P.V.) dans l'eau. Après 30 minutes au B.M. à 60° et refroidissement sous un courant d'eau, on effectue la lecture au spectrophotomètre.

Si la solution de sucre irradiée est trop concentrée, un trouble apparaît, il y a lieu de refaire la réaction avec une solution diluée. On peut aussi, en ajoutant une partie d'alcool à 90° faire disparaître le trouble, mais il faut alors utiliser une autre courbe de référence car la valeur de ϵ a varié. La première méthode est préférable.

On mesure à 535 nm, la valeur de $E_{1\text{cm}}$ ($7,8 \cdot 10^4$ (20) (*) $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) dans NaHCO_3 0,1 M.

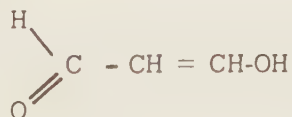
La loi de Beer-Lambert s'applique pour des concentrations de 9 à $5 \cdot 10^{-5}$ molaire.

La mesure à froid est effectuée de la même manière en laissant en contact les composés à 20° pendant une durée de 48 h. Il n'y a pas de différence avec celle effectuée à 60° pendant 30 minutes pour les corps que nous avons étudiés; pourtant pour certains composés la réaction à 455 nm est beaucoup plus intense (glyoxal, dihydroxyacétone, aldéhyde glycérique).

La réaction au B.M. bouillant pendant 15 minutes n'a de l'intérêt que pour le glyoxal où le pic à 455 nm est remplacé par deux autres à 525 et 550 nm maxima signalés par Norman L. Smith et al (23). Le dosage de l'A.M. effectué par la réaction à l'acide TB à froid ou à 60° n'est pas gêné par la présence de glyoxal comme cela a lieu au B.M. bouillant.

● Détection en Ultra-violet

Nous avons cherché si l'aldéhyde malonique n'absorbait pas dans le domaine de l'ultra-violet, comme sa formule énolique le laissait prévoir.



(*) Sinnhuber et al (20) indiquent pour ϵ la valeur de $1,56 \cdot 10^5$. Il s'agit de l' ϵ du colorant (AM + acide TB). L'A.M. se trouve dilué au demi dans la technique employée dans ce travail pour former le colorant, d'où la valeur $E_{1\text{cm}} = 7,8 \cdot 10^4$.

$E_{1\text{cm}}$: Densité optique d'une solution molaire du corps étudié pour une épaisseur de 1 cm.

Cette hypothèse s'est montrée exacte. L'A.M. présente un pic d'absorption à 268 nm parfaitement net en milieu basique et à 245 nm aux pH acides, la sensibilité de la réaction est du même ordre que celle de l'acide TB, L'intérêt de la détection en ultra-violet résulte de la simplicité de la mesure. Elle est directe donc non destructrice.

Ces résultats ont été confirmés par les travaux de Maschio dont nous avons eu ultérieurement connaissance. Maschio signale l'absorption en UV de l'A.M. à 268 nm pour les pH alcalins ($\epsilon = 3,003 \cdot 10^4$) et à 245 nm pour les pH acides. ($\epsilon = 1,296 \cdot 10^4$) (6).

Technique de mesure dans l'U.V.

La mesure est extrêmement aisée : elle a lieu à 268 nm pour une solution aqueuse dont le pH varie de 11,5 à 7,5 et à 245 nm pour un pH de 5,5 à 1,5.

Sauf mention contraire les mesures ont été faites à pH 9,5 dans une solution de Na H CO_3 0,1 M et les résultats ont été reproductibles.

La sensibilité est bonne : $\epsilon = 3,003 \cdot 10^4$ litre $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$. La loi de Beer-Lambert est valable jusqu'à $5 \cdot 10^{-5}$ molaire. La pente de la droite permet une lecture facile.

Des 2 méthodes exposées la mesure en UV est la plus simple mais elle n'est pas spécifique : de nombreux corps absorbent entre 260 - 290 nm. Celle avec le MBTH donne un spectre en forme de plateau avec de nombreux aldéhydes. Seule la réaction à l'acide TB à 60° est spécifique.

2°) CONDITIONS D'IRRADIATION

● Lieu de l'irradiation

Nos premiers essais ont été faits en province. Mais le transport des échantillons particulièrement périssables, posait des problèmes difficiles, c'est pourquoi toute l'expérimentation récente a été faite au Centre de Recherches de l'Energie Nucléaire de Saclay, service de physico-chimie-appliquée avec l'irradiateur Pature (25).

● Nature du rayonnement

Il n'a été utilisé lors des expériences rapportées dans ce travail que du Cobalt 60. Celui-ci, lors de sa désintégration émet un rayonnement (β) de 0,305 Mev et deux rayonnements γ de 1,1715 et 1,3316 Mev. Pratiquement avec les diverses gaines employées autour des sources, seul est utilisé le rayonnement γ . Il s'agit d'un rayonnement d'énergie moyenne, c'est-à-dire capable de traverser sans difficulté les divers échantillons, ce qui facilite l'irradiation, mais trop faible pour créer une radio-activité induite qui perturberait l'expérience et qui risquerait d'être dangereuse. Ce serait le cas pour l'irradiation par les barres d'uranium des piles atomiques utilisées pendant le temps de leur désactivation ou avec un accélérateur d'électrons de grande énergie. Aucune irradiation rapportée dans ce travail n'a été faite par ces méthodes.

● Irradiateur panoramique au Co 60 : Pature

La source de 10.000 curies est composée de 10 crayons de 1.000 curies chacun de cobalt 60 gainés d'acier inoxydable, placés en anneau autour du panier central, le tout au milieu d'une table en acier avec les distances matérialisées par des cercles de 5 en 5 cm.

● Salle d'irradiation

Toute la salle est blindée avec du béton lourd. La porte est faite d'un mur mobile qui vient obstruer l'ouverture, poussé par un vérin hydraulique. L'aération de la salle est assurée par une soufflerie qui élimine l'ozone formé par action des rayons γ sur l'oxygène de l'air.

● Services de Sécurité

Quand on pénètre dans la chambre d'irradiation pour y déposer les échantillons, les crayons sont escamotés dans un puits qu'une dalle de béton vient fermer, ceci par commande à distance à partir d'une salle voisine.

En cas de fausse manoeuvre, de coupure de courant ou de tout autre incident, un groupe de sécurité fait descendre les sources automatiquement. L'ouverture de la porte en particulier ne peut avoir lieu que dans ce cas.

Un système de télévision à l'optique spéciale résistant aux rayons gamma, permet à tout instant de surveiller la salle. Des compteurs Geiger et une chambre d'ionisation mesurent d'une façon permanente le niveau de la radioactivité. Enfin une balise lumineuse à l'entrée indique si on peut y accéder sans danger. Le personnel est muni de film-dosimètres Chassende-Barrow.

● Echantillons

Les solutions sont préparées dans de l'eau tridistillée avec des composés "purs pour analyse" pour les corps chimiques et seulement "purs" pour les sucres. Elles sont passées sur filtre "millipore" 0,8 μ ce qui, l'avons-nous constaté, améliore beaucoup la reproductibilité et est très utile surtout dans le cas des sucres. Elles ne sont ni stérilisées, ni tyndallisées, mais stockées au frigorifique à + 4°. Tout ceci est fait la veille de l'irradiation pour que le phénomène de mutarotation ait lieu.

Les solutions sont alors réparties en flacons.

Nous avons employé des flacons en quartz ou en verre ordinaire. Ceux en quartz avec bouchon rodé sont parfaits car rigoureusement neutres vis à vis des solutions lors de l'irradiation, mais ils sont fragiles et surtout extrêmement coûteux. Le rayonnement les colore en violet améthyste. Ceux en verre sont fermés par un joint en caoutchouc qualité "stérilisable à l'autoclave". Ces récipients sont excellents si on prend la précaution de les pré-irradier remplis de la solution de Na H CO₃. A ce moment-là, ils donnent autant de satisfaction que ceux en silice. Ils sont alors colorés en brun. On peut en les chauffant au four Pasteur leur redonner leur transparence initiale, mais ceci est à déconseiller, car le chauffage risque de réintroduire des impuretés.

Les flacons sont lavés au mélange sulfo-chronique et rincés abondamment. Les joints en caoutchouc sont préalablement bouillis avec du carbonate de sodium et mis en place avec une pince pour éviter toute trace de graisse. Les échantillons d'un volume uniforme de 20 ml ont été placés dans des récipients de 30 ml.

● Irradiation

Les flacons à irradier sont disposés soit dans le panier central au milieu du cylindre déterminé par les crayons de cobalt, soit sur la table à des distances variables du centre. Le flux étant plus intense à 18 cm au-dessus de la table, les flacons ont été déposés à cette hauteur.

● Mesure après exposition

Celle-ci a lieu 24 heures après l'irradiation pour l'A.M. ; quelque fois un peu plus tard pour les études de polarimétrie et du pouvoir réducteur. Auparavant, le pH est à nouveau mesuré. Une variation de $\pm 0,10$ unité pH fait suspecter une erreur et l'échantillon est rejeté.

Entre toutes ces études, les flacons sont stockés à 4°. A noter que le borate et l'irradiation contribuent à la stabilisation des solutions de sucre en empêchant la prolifération microbienne.

● Dosimétrie

Elle a été réalisée suivant la technique classique de Fricke. Les solutions aqueuses de sulfate ferreux suivantes ont été préparées :

Sulfate ferreux (sel de Mohr)	0,001 M
H ₂ SO ₄	0,4 M
Na Cl	0,001 M

La mesure a lieu en ultra-violet à 304 nm. La valeur du coefficient d'extinction moléculaire est de :

$$\epsilon = 2.220 \text{ à } 25^\circ \text{ C, mais varie peu avec la température}$$

Comme on connaît G le rendement radio chimique de l'ion fer trivalent ($15,6 \text{ Fe}^{3+}/100\text{eV}$) on peut calculer la dose en rads.

Pour les points à des distances intermédiaires, nous avons procédé au calcul suivant :

Soient 3 points A, B, C, ; A et B se trouvent sur des circonférences où la dosimétrie a été effectuée, C un point intermédiaire. Les doses mesurées en A et B sont D_A et D_B , les distances au centre : d_A , d_B , d_C . Si la loi du carré des distances $D = K \frac{1}{d^2}$ était entièrement vérifiée, on devrait avoir :

$$D_A d_A^2 = D_B d_B^2 = D_C d_C^2 = K.$$

On pourrait alors calculer D_C . En réalité, cette loi n'est qu'approchée, K varie. Aussi plutôt que de faire l'interpolation entre les doses par un partage proportionnel aux distances, nous avons préféré effectuer les deux produits $D_A d_A^2$ et $D_B d_B^2$ faire leur moyenne K_m et avec cette moyenne calculer D_C on trouve :

$$D_C = \frac{K_m}{d_C^2}$$

Cette méthode semble plus rigoureuse, car elle fait intervenir " d^2 " comme dans la loi des carrés des distances, au lieu de " d " dans le partage proportionnel. L'erreur due aux distances est réduite, car l'intensité est faible. La dose est calculée à $\pm 10 \%$.

3°) FACTEURS MODIFIANT L'IRRADIATION

● Rôle de l'intensité du rayonnement (ou débit de dose)

Une même dose peut être délivrés soit rapidement soit lentement.

Après quelques essais à forte intensité 250.000 rad/heure nous avons (*) préféré ceux où le débit de dose est faible 31.000 rad/heure. A faible intensité, la chaîne des réactions a lieu régulièrement et les phénomènes sont plus reproductibles (26).

● Température

Sauf mention spéciale, l'irradiation a lieu à la température ordinaire du laboratoire, c'est-à-dire voisine de 20° . L'irradiation sous forte intensité produit une élévation de température qui peut atteindre 10° C et modifier les réactions.

● Atmosphère au-dessus des solutions

Les expériences ont été faites en présence d'air, jamais sous azote. Les solutions sont transvasées plusieurs fois pour les aérer avant irradiation et les flacons ne sont remplis qu'au tiers de leur volume.

Certains auteurs (27) critiquent cette technique et font barboter un courant d'oxygène dans la solution pendant l'irradiation.

Pour les expériences rapportées ici où les intensités employées sont faibles, les précautions prises sont suffisantes et l'équilibre : O_2 (solution) / O_2 (air) n'est pas perturbé.

(*) Débit de dose et intensité du rayonnement sont deux termes synonymes.

● Le pH

L'irradiation des oses produit des acides osiques qui acidifient le milieu.

Deux possibilités se présentaient - ou bien au cours de l'irradiation laisser varier le pH et effectuer la mesure de la tangente à l'origine pour avoir le rendement initial, ou bien stabiliser le pH en utilisant des solutions à pouvoir tampon élevé.

Nous avons préféré la deuxième manière, car ces essais sont effectués en vue d'une application à des milieux biologiques qui sont fortement tamponnés : on avait donc intérêt à travailler dans des conditions semblables et recréer des solutions voisines du milieu intérieur des êtres vivants.

La variation du pH entraînait d'autre part un changement de concentration du complexe borate sucre et la production d'A.M. s'en trouvait profondément modifiée. De plus, il a été constaté expérimentalement que l'A.M. ne se formait par irradiation des glucides qu'à certains pH. Aussi le pH est-il ajusté avec précision sur les solutions et vérifié dans chaque échantillon. Nous avons utilisé un appareil "Radiometer" à lecture directe et à étalement d'échelle permettant d'évaluer le centième d'unité.

● Force ionique

Un autre facteur important qui intéresse les solutions est la force ionique. Celle-ci est égale à $\mu = \frac{1}{2} \sum c_i Z_i^2$ où c_i est la concentration des ions d'espèces i , de charge Z_i .

Les équations qui sont à la base des relations dues à Job et à Moore et Anderson que nous établirons plus loin pour l'étude des complexes, posent en principe que "K" constante apparente de formation de ces composés, ne varie pas. Ceci entraîne l'obligation d'avoir μ aussi stable que possible.

● Emploi d'un sel indifférent

Comme le galactose n'a aucun pouvoir tampon ni force ionique, que le borate varie dans un large domaine de concentration, il était nécessaire d'ajouter un sel "indifférent" de concentration $C \gg \alpha, \alpha'$ étant celle du composé ionisé étudié (le borate de sodium), pour que la variation de " α " n'entraîne pas de variation du pH ou de μ .

Le choix de ce sel s'est avéré très difficile et nous avons dû faire plusieurs essais. Outre un excellent pouvoir tampon à pH : 9,5 et une force ionique élevée. Il devait être "indifférent" aux expériences en cours, c'est-à-dire : ne pas donner de complexes ni avec le sucre étudié, ni avec l'A.M. Il devait bien résister chimiquement aux radiations aux doses utilisées pour que sa concentration ne varie pas, surtout ne pas produire de composés oxydants ou réducteurs qui viendraient troubler la réaction.

Nous avons essayé le sulfate de potassium : il a une force ionique élevée, il n'est pas attaqué à ce pH par les radiations, mais son pouvoir tampon qui est élevé à pH 1,5 est extrêmement faible à pH 9,5. Nous avons employé ensuite le nitrate de potassium : irradié, il donne des nitrites.

Le carbonate acide de sodium a finalement été choisi. On sait le rôle important qu'il joue pour régler le pH sanguin. Il a donné satisfaction : son pouvoir tampon est excellent ; il ne donne de complexes ni avec les sucres, ni avec l'A.M. et à pH 9,5 résiste bien aux radiations. Le verre des flacons a tendance à libérer des ions Na^+ lors de l'irradiation ; cette action devient négligeable devant la concentration en Na^+ due à ce sel. Aussi toutes les expériences rapportées sont faites avec des solutions de NaHCO_3 0,1 M (ou 0,5 M) ajustées à pH 9,5 avec de la soude, si bien qu'il y a en fin d'expérience un mélange de carbonate neutre et de carbonate acide de sodium.

MISE EN EVIDENCE DE L'ALDÉHYDE MALONIQUE DANS LES SOLUTIONS DE SUCRE IRRADIÉS -

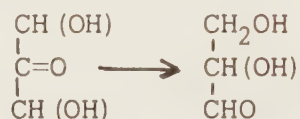
Une première question se posait : lors de l'irradiation des sucres se produit-il bien de l'aldéhyde malonique et est-il responsable de l'absorption en U.V. que signalent de nombreux auteurs (27, 39, 40) pour les solutions de sucres irradiés ?

1°) PRESENCE DE L'ALDEHYDE MALONIQUE

Alors que Patton et Coll. (19) Schmidt (14) Smith (15) (23), Sinnhuber (20) (5) qui ont étudié l'irradiation des viandes ou du lait uniquement par la réaction à l'acide thiobarbiturique sans s'inquiéter de l'absorption en ultra-violet, ne mettent pas en doute l'existence d'aldéhyde malonique, les auteurs qui ont étudié l'irradiation des sucres en solution aqueuse : Laurent (39), Ch. Bothner - By (40) et G.O. Phillips (27) et ses collaborateurs ne signalent pas l'existence de ce composé. M.E. Halter (41) dans sa thèse l'ignore aussi.

Pour Laurent (39) et Bothner - By (40) la présence d'une absorption à 268 nm pour un sucre irradié en milieu basique, déplacée à 245 nm, si on acidifie le milieu, est due à divers composés : acide ascorbique, réductone (dihydroxyacroleïne, hydroxy-malonaldéhyde), acide gluconique 2 cétone (acide 2 oxo.D. gluconique), D glucosone, etc... etc...

Après les travaux de Phillips, l'accent est mis sur la dihydroxy-1,3-acétone (D.H.A.) qui serait une forme énolique du glycéraldéhyde.



La glycéraldéhyde en milieu acide n'absorbe pas en ultra-violet, en milieu basique il donne un composé qui présente en effet une très importante absorption à 268 nm. Pour G.O. Phillips (27) en mélangeant en proportion convenable dihydroxyacétone et glyoxal, on obtient un spectre en ultra-violet tout à fait semblable à celui observé pour un sucre irradié.

Ce qui nous a frappé dans ces études, c'est que les auteurs : Laurent (39) Bothner - By (40) Phillips (27) qui ont étudié les sucres irradiés en solution aqueuse n'ont effectué que des mesures en ultra-violet, alors que ceux : Patton (19) Schmidt (14) Smith (15), Sinnhuber (5) (20) Taufel (43) Von Streuli (44), n'ont employé que la réaction à l'acide thiobarbiturique pour l'étude des aliments irradiés.

Ayant trouvé que l'aldéhyde malonique présente une absorption en ultra-violet (268nm et 245nm) et dans le visible (535 nm) nous avons voulu comparer ces résultats (figures 4 et 5, pages 26 et 27).

2°) RECHERCHES EFFECTUEES

Divers sucres ont été irradiés à pH 9,5 : aldéhyde glycérique, xylose, arabinose, ribose, glucose, galactose, mannose, fructose, maltose, lactose, saccharose, cellobiose et raffinose à la concentration uniforme de 0,01 M.

Une première mesure a été effectuée en ultra-violet au pH d'irradiation, puis une deuxième à pH 1,5 par addition de H₂ SO₄ concentré. Enfin la réaction à l'acide TB a été réalisée : par chauffage au bain-marie à 60° pendant 30 minutes.

A côté des résultats mesurés en ultra-violet il a été porté la valeur de E_{1cm} (*) calculé à partir de celui obtenu par réaction à l'acide TB que l'on peut supposer comme uniquement dû à l'aldéhyde malonique comme le montre l'étude du spectre effectuée sur divers composés (Tableau I page 23).

(*) E_{1cm} : Densité optique d'une solution moléculaire du corps étudié pour une épaisseur de 1 cm.

TABLEAU I

Rôle de l'aldéhyde malonique dans l'absorption en UV des sucres irradiés à pH 9,5

Valeur de $E_{1\text{cm}}$ à divers pH (dose 0,4 Mrad à pH 9,5) (λ) longueur d'onde en nm

Glucides irradiés (Con = 0,01 M)	pH 1,5		pH 9,5		E 535 après réaction à l'acide TB à pH 1,00	
	E 245 mesuré	E 245 calculé	E 268 mesuré	E 268 calculé		
Aldéhyde glycérique	0,50	0,29	0,90	0,69	0,36 (465)	1,78 (535)
D. Xylose	1,10	0,93	2,40	2,15		5,60 (535)
L. Arabinose	1,02	0,86	2,70	2,00		5,20 (535)
D. Ribose	1,00	0,68	1,60	1,58	0,18 (455)	4,10 (535)
D. Galactose	1,15	0,93	2,20	2,15		5,60 (535)
D. Glucose	1,04	0,85	2,50	1,96		5,10 (535)
D. Mannose	1,00	0,93	2,20	2,15		5,60 (535)
D. Fructose	1,20	0,83	2,20	1,92		5,00 (535)
Maltose	0,75	0,44	1,60	1,02	0,32 (455)	2,64 (535)
Lactose	0,87	0,47	1,60	1,09	0,36 (455)	2,84 (535)
Saccharose	1,88	0,98	5,40	2,27		5,90 (535)
Cellobiose	0,82	0,31	1,45	0,73	0,14 (455)	1,86 (535)
Raffinose	2,90	1,93	5,90	4,46	1,30 (455)	11,60 (535)

Les valeurs de l'absorption en ultra-violet due à l'aldéhyde malonique ont été calculés par référence à E 535 considéré comme spécifique de l'aldéhyde malonique.

On connaît en effet les valeurs de $E_{1\text{cm}}$ de l'aldéhyde malonique en U.V. (6) $1,296 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (pH 1,5 ; 245 nm) ; $3,003 \cdot 10^4$ (pH 9,5 ; 268 nm) et avec l'acide TB (20) $7,8 \cdot 10^4$ (535 nm). On peut donc calculer les valeurs de E 245 et E 268 dues à l'aldéhyde malonique à partir de celle de E 535.

Parallèlement, les divers composés qui ont été signalés dans la littérature ont été étudiés de la même manière : c'est-à-dire en solution tamponnée à pH 9,5 (NaHCO_3 0,1 M + NaOH) et à pH 1,5 ($\text{Na}_2 \text{SO}_4$ 0,1 M + $\text{H}_2 \text{SO}_4$) et après réaction à l'acide thiobarbiturique. Ainsi ont été passés en revue l'acide ascorbique, l'aldéhyde glycérique, l'aldéhyde malonique, la dihydroxyacétone monomère et dimère et le glyoxal.

On trouvera les résultats au tableau III.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux signalés par G. Mac Rinney et Odette Temmer (42) et par Norman L. Smith et al. (23) en notant quelques différences dues à la variation des pH des solutions et à l'instabilité de ces composés à certains pH.

3°) RESULTATS

Le tableau I montre que les sucres irradiés présentent tous une absorption à 268 nm en U.V. et à 535 nm dans le visible. Après acidification le pic en U.V. est situé à 245 nm (Fig. 1 et 2 pages 22 et 23).

Il s'agit d'un fait très général pour les glucides irradiés dans des solutions tampon à pH 9,5.

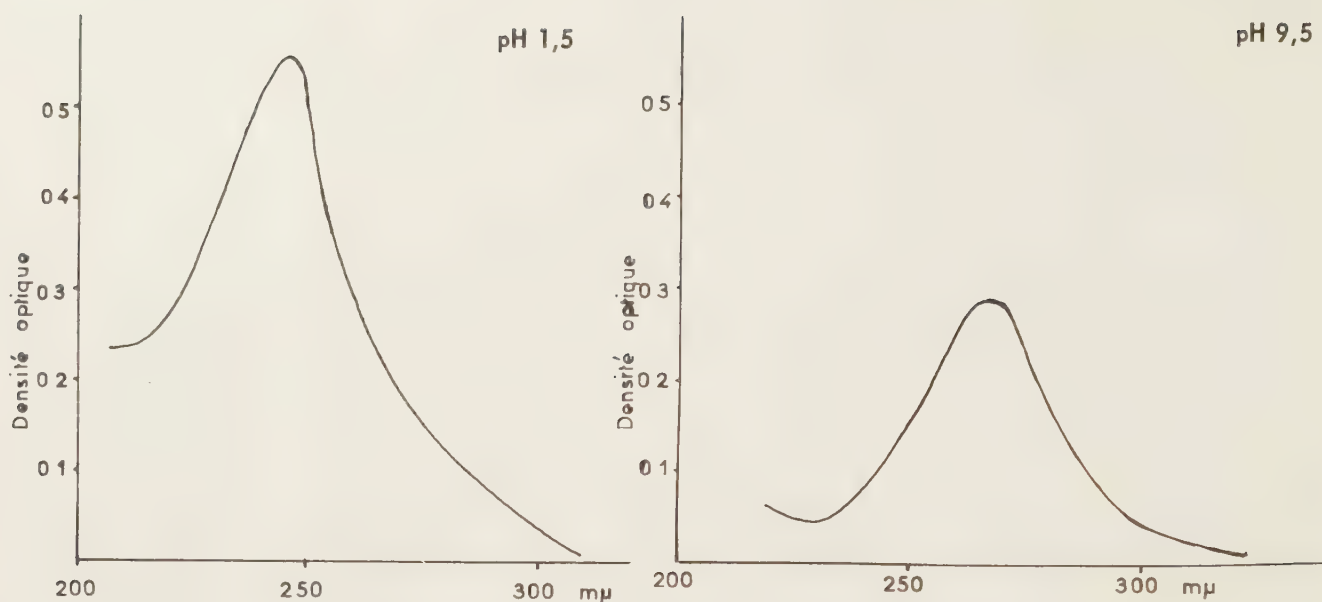


Figure 1 : Spectre en ultra-violet du galactose 0,01 M irradié à pH 9,5 dans NaHCO_3 0,1 M. Dose 0,5 Méga rad. Mesure à pH 9,5 : maximum à 268 nm et à 1,5 : maximum à 245 nm. Blanc : NaHSO_4 0,1 M et NaHCO_3 0,1 M.

De l'examen du tableau II, il ressort clairement que seul l'aldéhyde malonique présente exactement le même spectre que les sucres irradiés : en UV maximum à 245 et 268 nm et après réaction avec l'acide TB : maximum à 535 nm. (Figure 4 page 26, figure 5 page 27).

Noter la différence avec par exemple le spectre du glyoxal (Figure 6 page 28).

TABLEAU II

Pics en UV et dans le visible des divers composés
susceptibles d'être responsables de l'absorption en UV des sucres irradiés.

Valeur de 0,01 $E_{1\text{cm}}$ à divers pH pour les maximums d'absorption (λ) longueur d'onde en nm.

COMPOSES	Mesure en UV à pH 1,5	Mesure en UV à pH 9,5	après réaction avec l'acide TB
Acide ascorbique	92 (245)	4 (220) 22 (268)	0,13 (300) <u>0,36 (380)</u>
Aldéhyde glycérique	54 (245)	127 (268)	0,35 (455)
Déhydroxyacétone			
- monomère	0,92 (245)	2,4 (245)	<u>0,38 (455)</u>
- dimère	0,15 (270)	0,34 (285)	0,03 (368) <u>0,05 (455)</u>
Glyoxal	0,03 (210)	0,015 (235) 0,05 (295)	4,6 (370) 9,5 (455) <u>2,36 (525)</u> <u>1,30 (550)</u>
Aldéhyde Malonique	130 (245)	300 (268)	780 (535)

Les résultats soulignés correspondent à la réaction à l'acide TB à 100° 15'.

Les autres réactions avec l'acide TB ont été effectuées à 60° 30' suivant la méthode habituelle.

En particulier si on compare les spectres obtenus dans le visible par réaction TB, on voit que tous les glucides présentent celui très particulier de l'aldéhyde malonique : pic à 535 nm avec un "épaulement" caractéristique entre 480 et 510 nm. (Fig. 2 et 3 ci-dessous et Fig. 5 page 27).

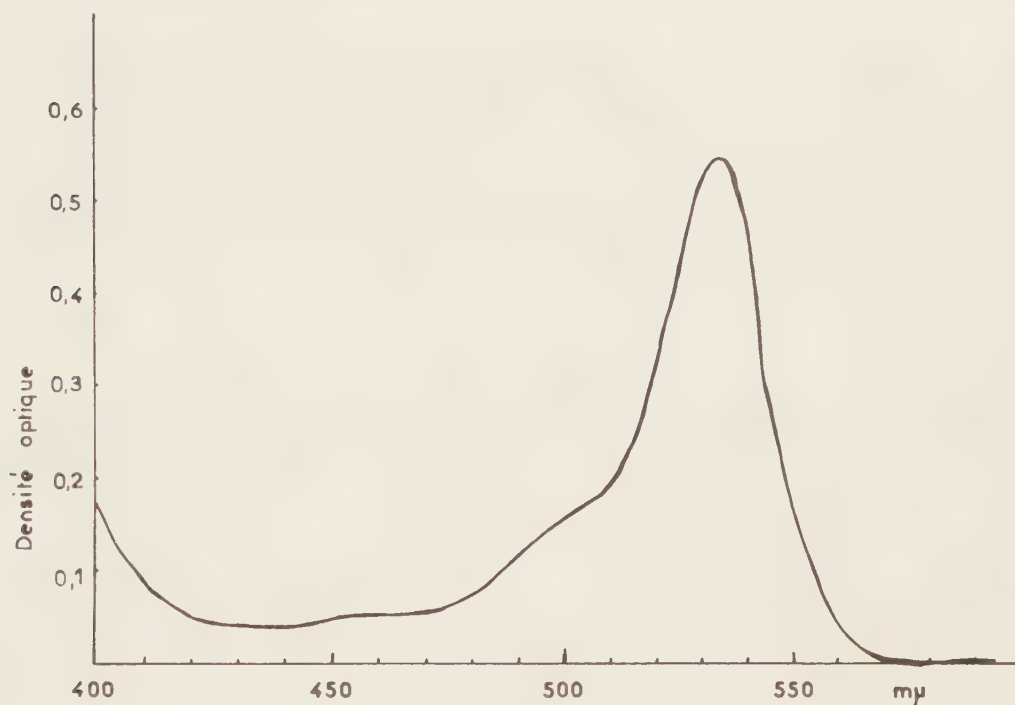


Figure 2 : Spectre du galactose irradié à pH 9,5 dans le NaHCO_3 0,1 M. Dose 0,5 Méga rad. Réaction à l'acide TB : maximum à 535 nm avec "épaulement" entre 480 et 510 nm. Blanc : acide TB dans l'acide trichloracétique.

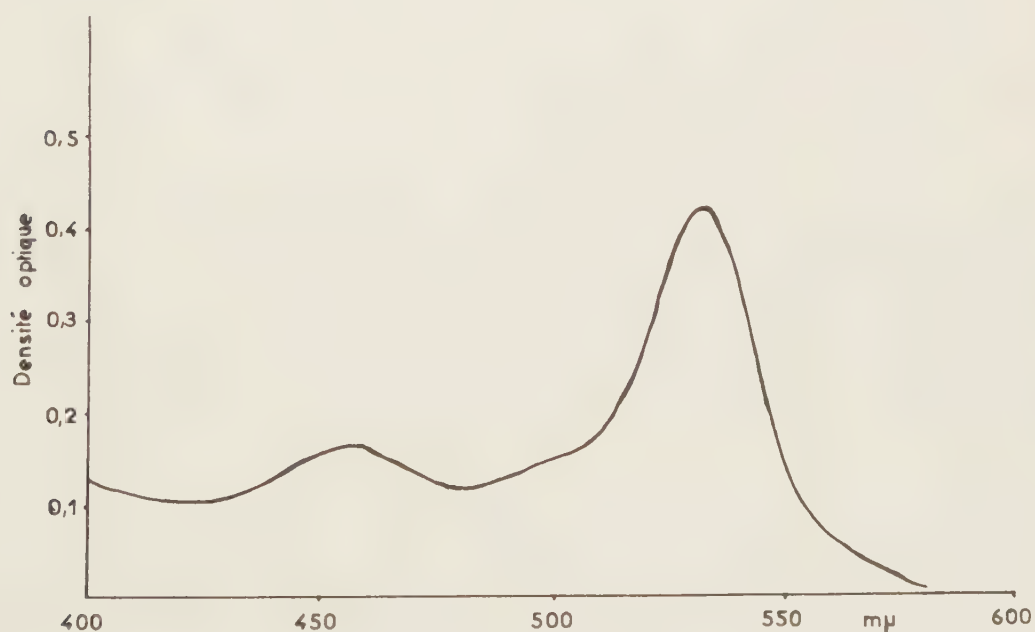


Figure 3 : Spectre du D. Ribose irradié à pH 9,5 dans le NaHCO_3 0,1 M. Dose 0,5 Méga rad. Réaction à l'acide TB : maximum à 535 nm avec "épaulement" entre 480 et 510 nm. 2ème maximum à 455 nm. Blanc : acide TB dans l'acide trichloracétique.

Certains glucides irradiés ont en outre un maximum à 455 nm : aldéhyde glycérique, maltose, lactose, D. Ribose, le spectre de ces composés est l'addition de celui de l'aldéhyde malonique très reconnaissable et d'un autre composé qui peut être soit l'aldéhyde glycérique, soit la dihydroxyacétone, soit le glyoxal.

4°) COMPOSES RESPONSABLES DE L'ABSORPTION EN ULTRA-VIOLET DES SUCRES IRRADIES

● Rôle de l'aldéhyde malonique

Il est difficile de répondre d'une façon générale car le pH de la solution lors de l'irradiation est primordial. Dans le cadre de cette expérimentation à pH 9,5 en milieu tamponné, l'absorption a lieu d'une façon constante à 268 nm.

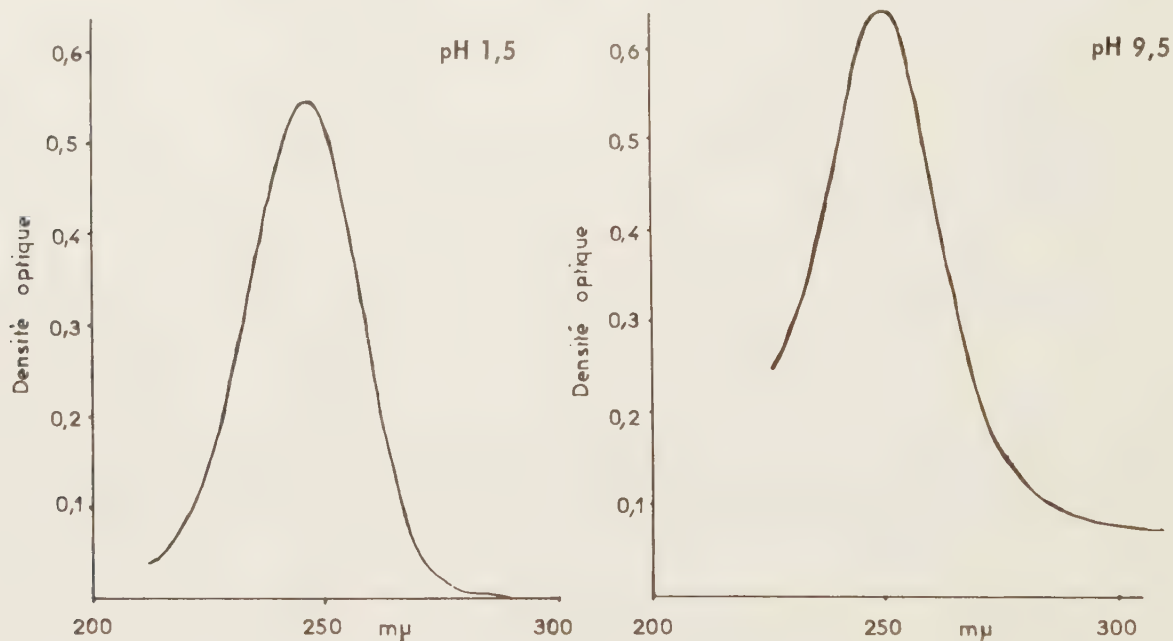


Figure 4 : Spectre en ultra-violet de l'aldéhyde malonique à pH 1,5 et 9,5 : maximum à 245 et 268 nm.
Blanc : K_2SO_4 0,1 M et $NaHCO_3$ 0,1 M.

En se reportant au tableau II, on peut éliminer le glyoxal et la déhydroxyacétone dont les spectres en U.V. sont très différents de ceux des sucres irradiés, par contre l'acide ascorbique et l'aldéhyde glycérique présentent les deux absorptions caractéristiques à 245 nm en milieu acide et à 268 nm en milieu basique comme l'ont signalé par ailleurs Laurent et Taward (39), mais leur rôle est secondaire par rapport à celui dû à l'aldéhyde malonique. Un calcul simple effectué à partir de la valeur de E 535 permet de connaître les valeurs de E 245 et E 268 qui sont dues à l'aldéhyde malonique. On voit que l'aldéhyde malonique est responsable de 40 à 98 % de l'absorption en ultra-violet des sucres irradiés (moyenne 70 %).

5°) INFLUENCE DE LA VARIATION DU pH D'IRRADIATION

Si au lieu d'effectuer l'irradiation à pH 9,5 on la pratique à divers pH étagés de 11,5 à 1,5 dans des milieux tamponnés convenablement, que va-t-on observer ?

Nous avons réalisé des solutions de galactose 0,1 M dans les milieux suivants choisis pour leur résistance aux rayonnements et pour leur pouvoir tampon dans la zone choisie.

pH	TAMPONS	
11,5	Na_2CO_3	0,1 M avec adjonction de NaOH
9,5	NaHCO_3	« NaOH
7,5	NaH_2PO_4	« NaOH
5,5	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	« H_2SO_4
3,5	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	« H_2SO_4
1,5	Na_2SO_4	« H_2SO_4

La lecture des résultats a été faite au pH d'irradiation. Ensuite le pH de tous les échantillons a été amené à pH 9,5 puis à pH 1,5 par adjonction de soude ou de H_2SO_4 . Une mesure de la densité optique a été alors effectuée.

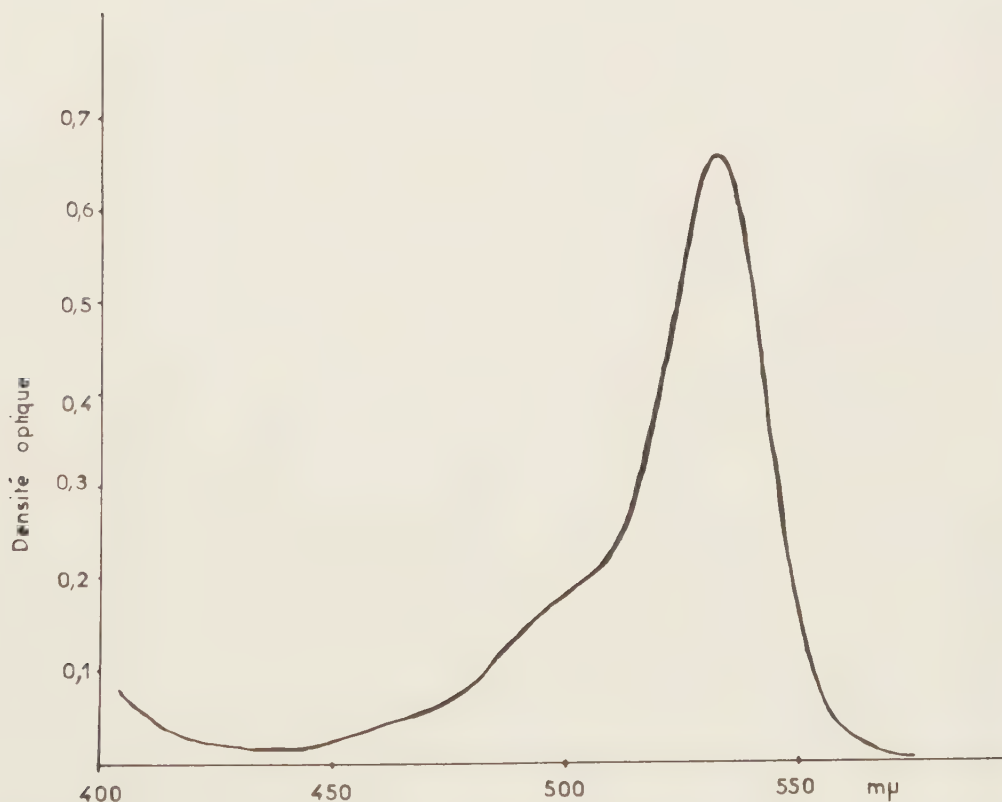


Figure 5 : Spectre de l'aldéhyde malonique. Réaction à l'acide TB : maximum à 535 nm avec "épaulement" caractéristique entre 480 et 510 nm. Noter la similitude totale avec le spectre du galactose irradié (figure 2) et partielle avec le spectre du D. Ribose irradié (figure 3).

TABLEAU III

Rôle du pH d'irradiation

Irradiation de solution de galactose 0,1 M à divers pH pour une dose de 0,5 MRad.

MESURES pH	au pH d'irradiation		à pH 9,5		à pH 1,5	Réaction avec l'acide TB pH 1,5	
	E ₂₆₈	E ₂₆₂	E ₂₆₈	E ₂₈₅	E ₂₄₅	E ₅₃₅	E ₄₅₅
11,5	2,80		4,40		2,70	21	0
9,5	2,60		2,60		1,90	6,3	0
7,5	1,80		1,40		1,30	2,1	0
5,5	0	0,12	0		0	0	0
3,5	0	0,34		0,50	0	0	1,1
1,5	0	0,88		1,00	0	0	1,3

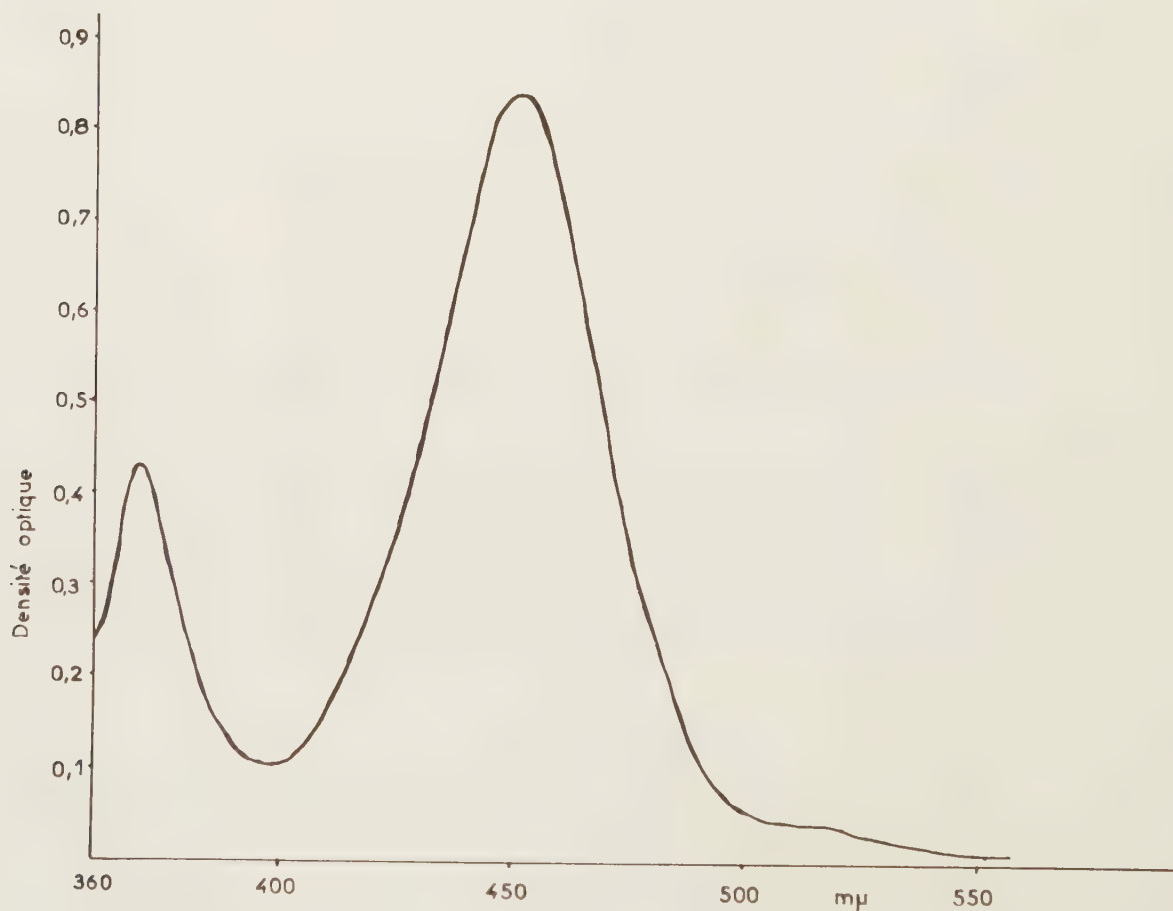


Figure 6 : Spectre du glyoxal. Réaction à l'acide TB (60° 30 minutes) : maximum à 370 et 455 nm.
Blanc : acide TB dans l'acide trichloracétique.

De l'examen du tableau III, on voit que l'aldéhyde malonique est produit uniquement aux pH alcalins de 11,5 à 7,5. Il ne se forme pas aux pH acides. On observe en effet les pics d'absorption à 268 nm, 245 nm et 535 nm et le spectre caractéristique de l'aldéhyde malonique pour les pH 11,5, 9,5 et 7,5. Aux pH acides d'autres composés entrent en jeu pour produire l'absorption en ultra-violet. Une construction graphique montre que au-dessous de pH 6, il ne se forme plus d'aldéhyde malonique.

Une étude effectuée sur divers oses a montré que ce phénomène est général : aux pH acides la production d'aldéhyde malonique est nulle pour les hexoses et faible pour les pentoses. Seul le fructose irradié présente une production d'aldéhyde malonique quel que soit le pH. On sait (Percheron) (46), que les sucres cétoniques donnent facilement de l'aldéhyde malonique, ce qui explique ce cas particulier.

•

EFFET DU BORATE DE SODIUM SUR L'IRRADIATION DES GLUCIDES

Ayant découvert que la présence de borate modifiait la production de l'aldéhyde malonique, nous avons approfondi cette question : d'abord en étudiant les complexes que forment les sucres avec le borate ensuite en irradiant divers glucides boratés pour savoir si ce phénomène était bien général, enfin en précisant cette recherche sur un sucre particulier : le galactose.

ETUDES DES COMPLEXES SUCRE-BORATE DE SODIUM A pH 9,5

Avant de pousser plus loin ce travail et d'exposer les recherches qui ont été effectuées sur divers mélanges sucre-borate en faisant varier certains paramètres, il était nécessaire de procéder à une étude des complexes qui se produisent "avant" irradiation entre sucre et borate de sodium à pH 9,5. Nous avons mis en oeuvre les deux techniques suivantes : la méthode de Job et celle de Moore et Anderson. Rappelons brièvement le principe de chacune.

1°) METHODE DE JOB OU DES VARIATIONS CONTINUES

La méthode des variations continues de P. Job (28) a été maintes fois utilisée pour la mise en évidence des complexes; citons en particulier les études faites par Borsook (29), I. Klotz (30) et M. Quintin (31).

Elle consiste à étudier les mélanges constitués par : x cm³ d'une solution d'un corps A de concentration moléculaire a , et $(1 - x)$ cm³ d'une solution équimoléculaire a d'un corps B, ceci pour toutes les valeurs de x comprises entre 0 et 1. On opère en présence d'un sel neutre C qui ne donne de complexes ni avec le corps A ni avec le corps B et dont la concentration c est suffisamment élevée ($c \gg a$) pour que la force ionique μ soit la même dans tous les mélanges. Ceci est indispensable d'une part pour que la méthode des variations continues soit valable et d'autre part pour que les constantes apparentes de formation des complexes soient indépendantes de x .

S'il ne se forme entre A et B qu'un seul complexe, on a la réaction d'équilibre :



Lorsque l'équilibre est atteint pour la température donnée, la loi d'action de masse correspondant à cet équilibre s'écrit :

$$(A)^m (B)^n = \frac{1}{K} (A_m B_n) \quad (1)$$

$$\text{avec } (A) + m (A_m B_n) = x a \quad (2)$$

$$\text{et } (B) + n (A_m B_n) = (1 - x) a \quad (3)$$

Les valeurs entre parenthèses représentent les concentrations molaires. Nous confondons activités et concentrations puisque nous sommes en solutions diluées.

Cherchons la composition maxima kx_m correspondant au maximum de $(Am Bn)$. Il suffit de dériver ces 3 équations par rapport à x en tenant compte de la condition :

$$\frac{d (Am Bn)}{dx} = 0$$

$$\text{Nous avons : } m A^{(m-1)} \cdot B^n \cdot \frac{d(A)}{dx} + n A^m B^{(n-1)} \cdot \frac{d(B)}{dx} = 0 \quad (1')$$

et en simplifiant par $A^{(m-1)} B^{(n-1)}$:

$$m(B) \frac{d(A)}{dx} + n(A) \frac{d(B)}{dx} = 0 \quad (1')$$

$$\frac{d(A)}{dx} = \alpha \quad (2')$$

$$\frac{d(B)}{dx} = -\alpha \quad (3')$$

$$\text{d'où } -\frac{d(B)}{dx} = +\frac{d(A)}{dx} = \alpha \quad (4)$$

en portant dans l'équation 1' les valeurs de $\frac{d(A)}{dx}$ et $\frac{d(B)}{dx}$

$$\text{on obtient : } +m(B)\alpha - n(A)\alpha = 0 \quad (1') \text{ ou } m(B) = n(A)$$

$$\begin{cases} (Am Bn) = \frac{x\alpha - (A)}{m} & (2) \\ (Am Bn) = \frac{(1-x)\alpha - (B)}{n} & (3) \end{cases}$$

d'où en éliminant $Am Bn$: $(1-x)m\alpha - m(B) = xn\alpha - n(A) \quad (2, 3)$

comme $m(B) = n(A)$, on a :

$$(1-x)m\alpha - n(A) = xn\alpha - n(A) \text{ et}$$

$$(1-x)m = nx; m - mx = nx$$

$$\text{Il vient : } x_M = \frac{m}{m+n} \text{ ou } \frac{x_M}{1-x_M} = \frac{m}{n}$$

l'abscisse x_M permet de trouver la composition du complexe.

Lors du calcul, certaines simplifications sont possibles parce que les **solutions A et B sont équimoléculaires**. Le maximum $\frac{m}{m+n}$ est alors indépendant de a et de K . K est constant car la force ionique est la même pour tous ces mélanges. On voit l'importance de l'adjonction d'un sel neutre. La composition de la solution pour la concentration maximale se confond alors avec celle du complexe.

$$\frac{x_M}{1-x_M} = \frac{m}{n}$$

Dans tous les autres cas, la composition du mélange maximum dépend des concentrations choisies ainsi que de K la constante apparente d'équilibre. C'est d'ailleurs la méthode pour calculer K que de faire l'expérimentation avec des solutions non équimoléculaires. Un calcul plus complexe (Bourrion et Rouyer) (32) donne x_M en fonction de α , p , K , m et n ; (α et p étant les concentrations respectives des deux composants).

Tout le problème revient donc à déterminer le maximum de Am Bn lorsqu'on mélange en proportions variables les solutions des deux sels A et B qu'elles soient équimoléculaires pour déterminer la composition du complexe ou non équimoléculaires pour trouver la constante d'équilibre. (Am Bn) est en général non accessible à l'expérience, mais on peut mesurer une valeur proportionnelle. Prenons le cas de l'étude spectrophotométrique (celle du pouvoir rotatoire est calquée sur la précédente).

On mesure au spectrophomètre l'intensité du faisceau de lumière incidente I_0 et celle émergente I d'une cuve à faces parallèles remplie de la solution à étudier. On définit la densité optique Δ de cette solution $\Delta = \log \frac{I_0}{I}$. La loi de Beer-Lambert relie la concentration C en moles par litres à Δ .

On a : $\Delta = \epsilon c l$; ϵ étant le coefficient d'extinction moléculaire du corps et l l'épaisseur de la cuve en cm. Une cuve de 1 cm a toujours été employée d'où $\Delta = \epsilon c$.

L'étude de la fonction $\Delta = f(\lambda)$ ne présente que peu d'intérêt, par contre celle de $\Delta - \Delta_0 = f(x)$ est très instructive (Δ_0 étant la densité optique de la solution s'il ne se produisait aucune réaction entre A et B), car elle permet de fixer le maximum de Am Bn.

On a en effet : $\Delta = \epsilon_0 (A) + \epsilon (Am Bn)$

Dans cette expérimentation, le corps (B) (borate de sodium) n'absorbe pas la lumière pour la longueur d'onde considérée. S'il ne s'était formé aucun complexe, on aurait eu :

$$\Delta_0 = \epsilon_0 \alpha x \text{ et d'après (2) : } \Delta_0 = \epsilon_0 (A) + m \epsilon_0 (Am Bn)$$

$$\begin{aligned} \text{Donc : } \Delta - \Delta_0 &= (\epsilon - m \epsilon_0) (Am Bn) \\ &= C^{te} \cdot (Am Bn); (\epsilon - m \epsilon_0) \text{ est une constante} \end{aligned}$$

Donc : $(\Delta - \Delta_0)$ est maximum (ou minimum) quand (Am Bn) est maximum.

Si on réalise les mélanges x cm³ de A à la concentration α et $(1 - x)$ cm³ de B à la même concentration, que l'on porte en abscisses les valeurs de x et en ordonnées la différence $\Delta - \Delta_0$, on obtient une courbe dont le maximum (ou le minimum) correspond à : $x_M = \frac{m}{m+n}$

ceci sous réserve que la force ionique soit constante ainsi que le pH, que l'un des deux corps n'absorbe pas la lumière pour la longueur d'onde considérée et qu'il ne se forme qu'un complexe. Si deux complexes se forment (Am Bn) et (Am Bp), J. Curchod (33) a montré que le déplacement du maximum de la courbe qui correspond au complexe principal Am Bn dépend de la concentration du deuxième, c'est-à-dire du rapport Am Bp/ α . Si ce complexe est de rang supérieur ($p > n$) le maximum est déporté vers $x = 1$ et s'il est de rang inférieur ($p < n$) le maximum se rapproche de $x = 0$, à condition que m soit inchangé.

Pour l'étude polarimétrique le raisonnement est identique. C'est la courbe $\alpha - \alpha_0 = f(x)$ que l'on considère avec α rotation de la lumière lue sur l'appareil et α_0 celle calculée d'après la teneur en sucre pur. On se réfère au lieu de celle de Beer-Lambert à la loi de Biot : $\alpha = [\alpha]_{\lambda} c l$ où α est le pouvoir rotatoire d'une solution de concentration " c " en grammes par millilitres " l " l'épaisseur de la cuve en décimètres et $[\alpha]_{\lambda}^t$ le pouvoir rotatoire spécifique pour la longueur d'onde λ et à la température t . Le borate de sodium n'a aucun pouvoir rotatoire sur le faisceau de lumière polarisée.

Pour le galactose, les tables indiquent pour la raie D du sodium (585 nm) $[\alpha]_D^{20} = +80^\circ 5$. Nous l'avons mesurée pour la raie B du mercure (raie indigo à 436 nm) $[\alpha]_B^{20} = +145^\circ$.

Haganmuller (34) a montré que la méthode de Job ainsi que celle de Moore et Anderson qui va être exposée ultérieurement peuvent s'appliquer dans ce cas puisque les deux lois de Biot et de Beer Lambert sont des lois additives.

● Polarimétrie :

Pour effectuer ces études il a été fait usage du polarimètre électronique Roussel-Jouan (35). La précision relative est de $\pm 3/100$. La sensibilité pour le galactose est de l'ordre de 0,001 M avec une cuve de 0,5 dm de longueur.

Le principe de ce polarimètre repose sur l'effet Faraday que précise la loi de Verdet (36). La rotation α du plan de la vibration lumineuse dans un champ magnétique uniforme parallèle au rayon lumineux est proportionnelle à l'épaisseur "l" de la matière traversée et à l'intensité H du champ magnétique : $\alpha = \rho l H$, ρ est la constante de Verdet qui pour le flint est élevée (0,06). Comme dans un solénoïde $H = nI$, n : nombre de spires, I intensité du courant, on voit que l'on a $\alpha = K I$. ($K = Cte$).

Grâce à la sensibilité d'un tel polarimètre, nous avons pu déterminer la formule du complexe et sa constante apparente de formation, ainsi que mesurer la teneur en galactose après irradiation des solutions.

● Technique :

Des solutions de galactose et de borate de sodium 0,01 M dans le NaHCO_3 0,1 M. ont été préparées. On sait que le borate de sodium ou borax a pour formule $\text{B}_4\text{O}_7\text{Na}_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Des flacons contenant des quantités croissantes de galactose : 0, 2, 4 18, 20 ml ont été réalisées et à chaque flacon, il a été ajouté des quantités décroissantes de borate 20, 18, 16 2, 0 ml. Le tube 10 galactose/10 borate a été entouré par les tubes 9/11 et 11/9, ceci afin d'avoir une meilleure précision près de $x = 0,5$ qui correspond au maximum de la courbe.

Les mesures ont été faites pour la raie D du sodium (585 nm) et la raie indigo de la lampe à vapeur de mercure dite raie B (436 nm) avec une cellule de 0,5 dm de longueur. Le multiplicateur électronique de l'appareil a été réglé sur la sensibilité 0,5.

Comme nous utilisons des concentrations en g. par 1.000 ml c'est donc des 1/1000 de degré que nous lisons sur le galvanomètre.

$$\text{En effet : } (\alpha_{lu}) \cdot (0,5) = [\alpha]_{\lambda} \frac{\alpha}{1000} \cdot (0,5)$$

Le 1er (0,5) correspond au multiplicateur électronique.

Le 2ème (0,5) est l'épaisseur de la cuve en dm.

g/1000 est la concentration.

Comme $[\alpha]_{\lambda}$ est exprimé en degrés, (α_{lu}) est en 1/1000 de degré. Le tube témoin (ou blanc) correspond au borate pur, il est retranché de toutes les valeurs trouvées.

De cette valeur α ainsi déterminée, on calcule $(\alpha - \alpha_0)$ avec α_0 pouvoir rotatoire du sucre à la même concentration sans être additionné de borate. Plutôt que de faire une deuxième série de tubes ne contenant que du galactose, nous avons calculé α_0 pour chaque tube à partir du flacon $x = 1$ (galactose pur) et appliqué la loi de Biot : $\alpha_0 = [\alpha]_{\lambda} c l$.

On porte en ordonnées $(\alpha - \alpha_0)$ et en abscisses x. Comme on a pris pour témoin le tube $x = 0$ (borate pur) la courbe part de l'origine.

En réalité à la place de $(\alpha - \alpha_0)$ on porte $|\alpha - \alpha_0|$ car $\alpha_0 > \alpha$, la courbe présente alors un maximum. Celui-ci a lieu pour $\frac{x_{\max}}{1 - x_{\max}} = \frac{m}{n}$ ce qui permet de déterminer m et n qui doivent être des nombres entiers.

Auparavant nous avons vérifié par la même méthode que le galactose et le carbonate acide de sodium, l'aldéhyde malonique et le borate ne donnaient pas de complexe.

● Résultats :

a) Galactose - Carbonate acide de sodium (figure 7)

Nous avons porté $\alpha = f(x)$. Nous obtenons une droite, ce qui prouve bien qu'il ne se forme aucun complexe entre ces deux corps et que l'emploi de Na HCO_3 comme sel indifférent est judicieux.

b) Galactose - borate dans le NaHCO_3 0,1 M (figure 8)

On voit sans ambiguïté que le maximum de la courbe $(\alpha_0 - \alpha) = f(x)$ est atteint pour $x = 0,5$; on a donc un complexe de formule $(G_1 B_1)$. Ceci pour la raie D et la raie B et à pH 9,5.

Ce résultat très important va être confirmé par la méthode d'étude des complexes de Moore et Anderson.

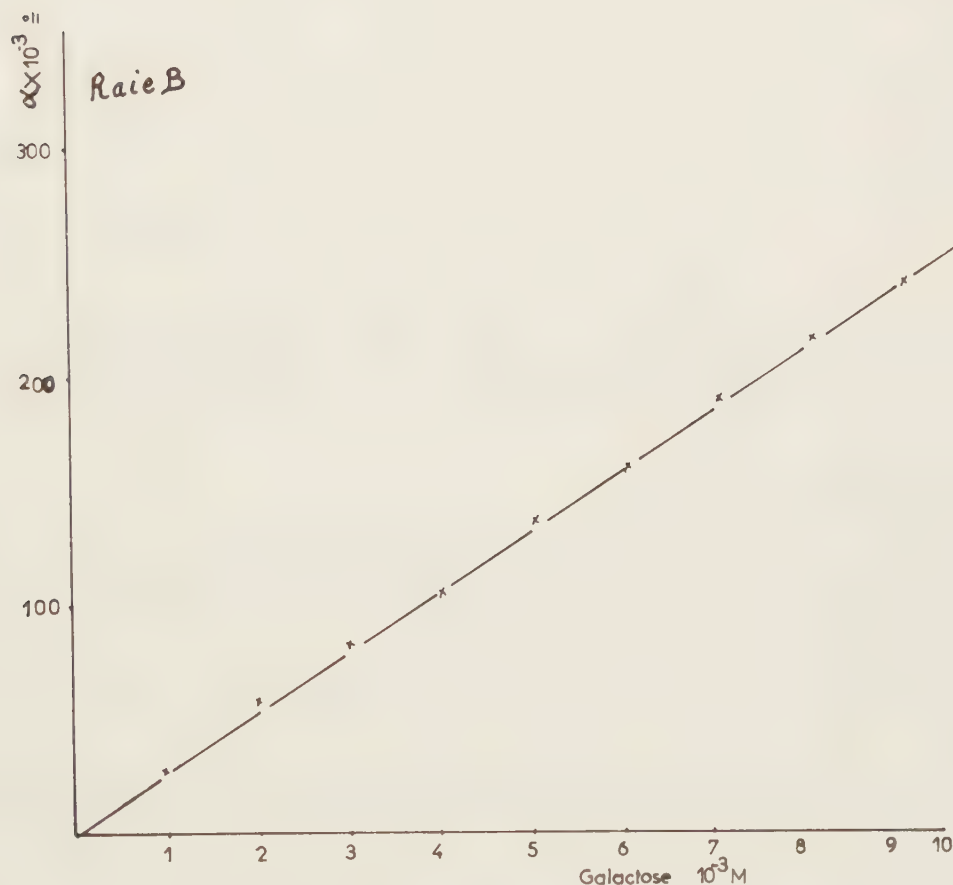


Figure 7 : Variation du pouvoir rotatoire en fonction du mélange galactose-bicarbonate de sodium, galactose croissant, bicarbonate décroissant. Représentation proportionnelle : $\alpha = f(x)$.

On obtient une droite : il ne se forme aucun complexe.

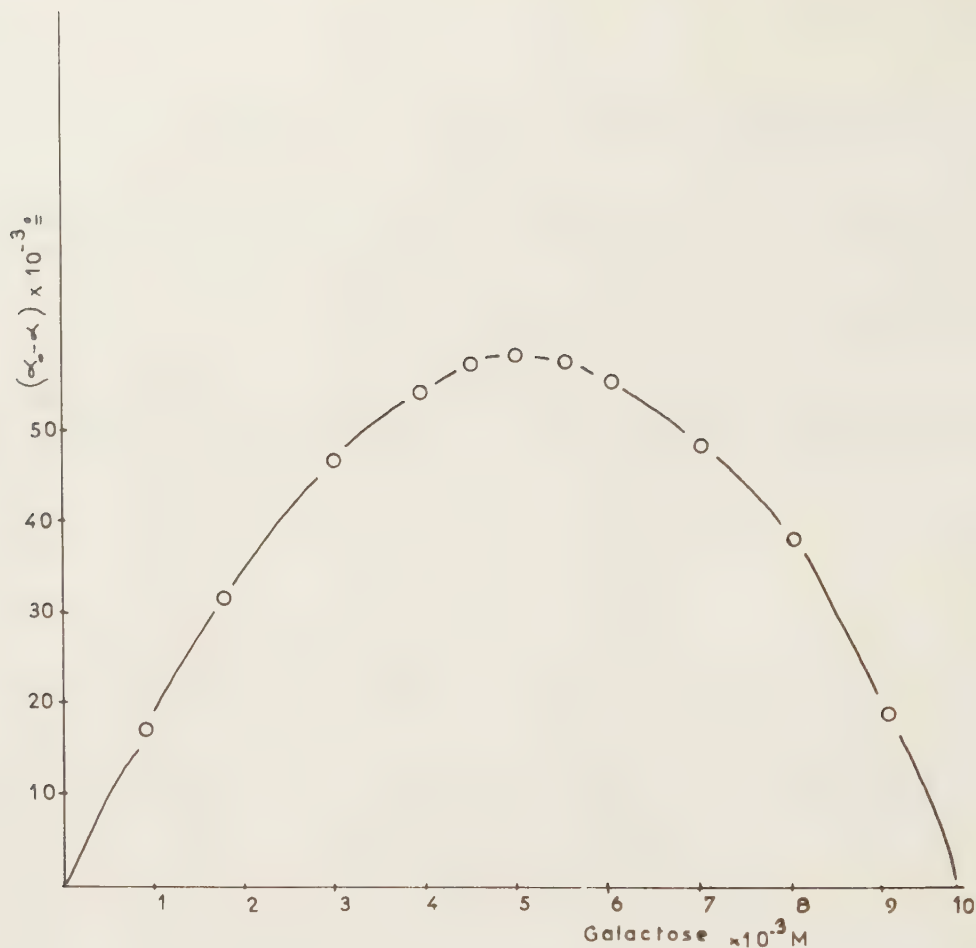


Figure 8 : Courbe de Job : Variation du pouvoir rotatoire lié à la concentration du complexe galactose - borate en présence de NaHCO_3 0,5 M à pH 9,5. Raie B = 436 nm. Cuve 0,5 dm.

Le maximum est obtenu sans ambiguïté pour $x = 0,5$. Il se forme donc le complexe $G_1 B_1$.

2°) METHODE DE MOORE ET ANDERSON (37)

Nous employons deux solutions a et b des deux corps dont on veut étudier la formation de complexes, mais à la différence de la méthode de Job où les deux solutions sont équivalentes, on réalise les mélanges suivants : à la solution du corps A de concentration constante $2a$, on ajoute chaque fois un volume égal du corps B de concentration $2b$ croissante de 0 à $+\infty$.

Sur du papier log-log on porte en ordonnée : $y = \log (\Delta - \Delta_0)$ [ou $\log (\alpha - \alpha_0)$ si l'on travaille en polarimétrie] et en abscisses $x = \log b$.

La mesure de la pente à l'origine de la courbe représentative $y = f(x)$ permet de fixer la composition du complexe. En outre pour les grandes valeurs de x , on peut calculer la valeur de la constante de **formation**.

On a 5 équations dont 3 identiques à celles trouvées lors de la méthode de Job :

$$a = (A) + m (Am Bn) \quad (1)$$

$$b = (B) + n (Am Bn) \quad (2)$$

$$\frac{(Am Bn)}{(A)m(B)n} = K \text{ ou } \log (Am Bn) = m \log (A) + n \log (B) + \log K \quad (3)$$

$$y = \log (\Delta - \Delta_0) = \log (\epsilon - m\epsilon_0) + \log (Am Bn) \quad (4)$$

$$x = \log b \quad (5)$$

en remarquant bien cette fois que $a = C^{te}$ et b est une variable de 0 à $+\infty$.

Les valeurs entre parenthèses représentent les concentrations comme dans le raisonnement précédent.

Etudions la valeur de la dérivée : $\frac{dy}{dx}$ (6)

D'après (5) nous avons : $dx = \frac{db}{b}$

et d'après (4) : $dy = \frac{1}{(Am Bn)} \cdot d(Am Bn)$

d'où (6) : $\frac{dy}{dx} = \frac{b}{(Am Bn)} \cdot \frac{d(Am Bn)}{db}$

Dérivons les 3 équations 1, 2 et 3, par rapport à b

$$(1') \quad 0 = \frac{d(A)}{db} + m \frac{d(AmBn)}{db}$$

$$(2') \quad 1 = \frac{d(B)}{db} + n \frac{d(AmBn)}{db}$$

$$(3') \quad \frac{1}{(AmBn)} \cdot \frac{d(AmBn)}{db} = \frac{m}{(A)} \cdot \frac{d(A)}{db} + \frac{n}{(B)} \cdot \frac{d(B)}{db}$$

$$\text{ou } \frac{d(AmBn)}{db} = (AmBn) \left[\frac{m}{(A)} \cdot \frac{d(A)}{db} + \frac{n}{(B)} \cdot \frac{d(B)}{db} \right]$$

Tirons $\frac{d(A)}{db}$ et $\frac{d(B)}{db}$ de 1' et 2'

$$\begin{cases} \frac{d(A)}{db} = -m \frac{d(AmBn)}{db} \\ \frac{d(B)}{db} = 1 - n \frac{d(AmBn)}{db} \end{cases}$$

D'où (3') devient :

$$\begin{aligned} \frac{d(AmBn)}{db} &= (AmBn) \left[\frac{-m}{(A)} \left(m \cdot \frac{d(AmBn)}{db} + \frac{n}{(B)} \left(1 - n \frac{d(AmBn)}{db} \right) \right) \right] \\ &= \left[-\frac{(AmBn) m^2}{(A)} - \frac{n^2 (AmBn)}{(B)} \right] \cdot \frac{d(AmBn)}{db} + \frac{n(AmBn)}{(B)} \\ \frac{d(AmBn)}{db} \cdot \left[1 + \frac{(AmBn) m^2}{(A)} + \frac{n^2 (AmBn)}{(B)} \right] &= \frac{n(AmBn)}{(B)} \end{aligned}$$

D'où (6) :

$$\frac{dy}{dx} = \frac{b}{(AmBn)} \cdot \frac{n(AmBn)}{(B)} \times \frac{1}{1 + (AmBn) \left(\frac{m^2}{(A)} + \frac{n^2}{(B)} \right)}$$

$$(6) \quad \frac{dy}{dx} = \frac{bn}{(B)} \times \frac{1}{1 + (AmBn) \left(\frac{m^2}{(A)} + \frac{n^2}{(B)} \right)}$$

$$= \frac{bn}{(B)} \cdot \frac{1}{1 + \frac{m^2 (AmBn)}{(A)} + \frac{n^2 (AmBn)}{(B)}}$$

En début de titrage : $b \ll a$ et $(A) \gg (AmBn)$

car il y a très peu de complexe de formé.

$$\text{donc : } \frac{(AmBn)}{(A)} \approx 0 \text{ donc le terme : } \frac{m2 (AmBn)}{(A)} \approx 0$$

$$(6)_1 \quad \frac{dy}{dx} = \frac{bn}{(B) + n2 (AmBn)} = \frac{bn}{(B) + n (AmBn) + (n-1) n (AmBn)}$$

$$\text{comme } b = (B) + n (AmBn) \quad (2)$$

$$\text{On peut écrire : } (6)_2 \quad \frac{dy}{dx} = \frac{bn}{b + (n-1) n (AmBn)}$$

Nous sommes au début du titrage, le corps b comme le notent Bent et French (38) est en solution très diluée et le complexe est entièrement dissocié c'est-à-dire que $(Am Bn)$ est très petit devant b et que le terme $(n-1) (n) (Am Bn)$ peut être négligé devant b .

De ce fait, la pente de la courbe à l'origine donne la valeur de n :

$$(6)_3 \quad \frac{dy}{dx} = \frac{bn}{b} = n$$

L'expérience inverse $\left\{ \begin{array}{l} b = C^{te} \\ \alpha = \text{variable} \end{array} \right.$ permet de déterminer m .

En fin du titrage : $a \ll b$

Tout le complexe est formé et $a \approx (Am Bn)$

$$\text{d'où } Y_{\max} = \log (\Delta - \Delta_0) = \log (\epsilon - m\epsilon_0) + \log \alpha = C^{te}$$

$$\frac{dy}{dx} = 0 \text{ et la courbe tend vers une parallèle à l'axe des abscisses.}$$

● Techniques :

A des solutions de concentrations constantes de galactose 0,01 M dans $NaH CO_3$ 0,1 M, on a ajouté du borate à des concentrations croissantes depuis 0,3 jusqu'à 1.000 millimoles réalisées dans le même sel.

Pour ce faire, on mélange volume à volume une solution à 0,02 M de galactose et des solutions croissantes de borate de $0,6 \cdot 10^{-3}$ à 0,2 M.

La lecture est effectuée sur le polarimètre Roussel-Jouan avec comme témoin le tube de borate pur. On trace la courbe $|\alpha - \alpha_0|$ sur papier log-log. (α_0 pouvoir rotatoire du galactose pur).

La pente de la droite à l'origine donne directement la valeur du coefficient n du borate. La hauteur du palier permet de calculer $([\alpha] - m [\alpha_0])$ donc la valeur de K .

Par un artifice, en prenant galactose 0,001 M et borate 10 à 100. 10^{-3} M, on prolonge la courbe jusqu'à 1.000 millimoles, ce qui permet de préciser la valeur du maximum. Ceci nous est imposé par la solubilité du borate qui est de 0,1 M.

De même avec la courbe : Borate constant 0,1 M, galactose croissant, on trouve " m ".

● Résultats :

a) Concentration constante en galactose 0,01 M (Figure 9)

Nous portons $Y = \log (\alpha_0 - \alpha)$.

On voit très clairement que la pente est 1 aussi bien pour la raie B que D : donc : $n = 1$.

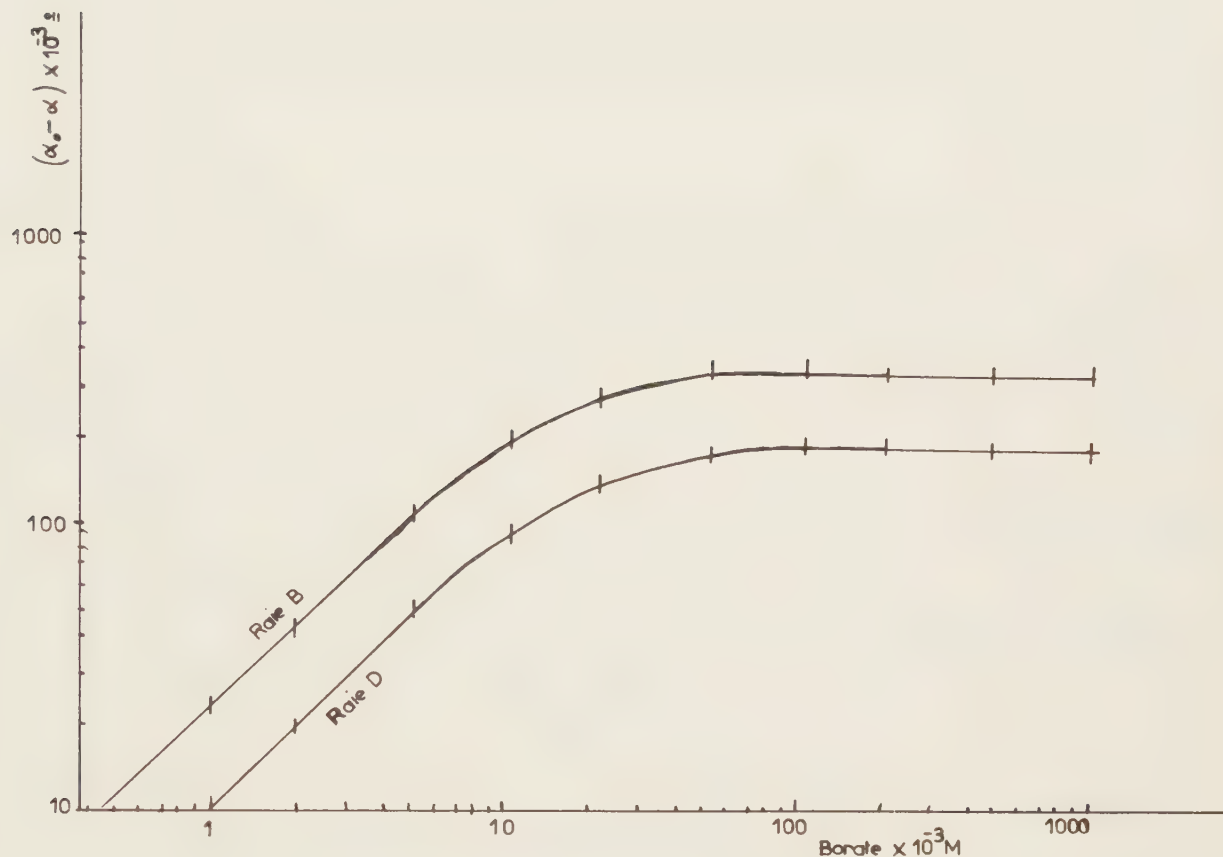


Figure 9 : 1ère courbe de Moore et Anderson permettant de déterminer le coefficient "n" du borate dans la formule du complexe.

$$x = \log b \quad y = \log (\alpha_0 - \alpha)$$

b = concentration en borate (variable); a = concentration en galactose 0,01 M Cte.

Graduation logarithmique. Galactose et Borate en solution dans NaHCO_3 0,5 M.

pH = 9,5 - Raie B = 436 nm - Raie D = 585 nm - Cuve 0,5 dm.

La pente à l'origine est 1, donc : $n = 1$.

b) Concentration constante en Borate 0,1 M (Figure 10)

La pente de la courbe est aussi égale à 1 d'où $m = 1$.

Dans le cas particulier de notre étude la pente de chacune des courbes est 1. Si on se reporte au calcul théorique de $\frac{dy}{dx}$ on voit qu'on début de titrage

$$\frac{dy}{dx} = \frac{bn}{b + (n-1) n (Am Bn)}$$

Comme $n = 1$, le terme $(n-1) n (Am Bn) = 0$ et la courbe représentative de la fonction est une droite jusqu'au moment où le terme $\frac{m2 (Am Bn)}{(A)}$ ne peut plus être négligé; c'est-à-dire, comme $m = 1$, quand $(Am Bn)$ devient important devant (A) . Ceci a lieu à partir de $10 \cdot 10^{-3}$ pour la première courbe et $50 \cdot 10^{-3}$ pour la deuxième. Cette différence est due à la concentration du "corps constant" entre les deux courbes qui varie d'un facteur 10.

Ces résultats sont en complet accord avec ceux trouvés par la méthode de Job.

Dans le cadre de notre expérimentation à pH 9,5, il n'y a qu'un complexe Galactose-borate de formule 1-1.

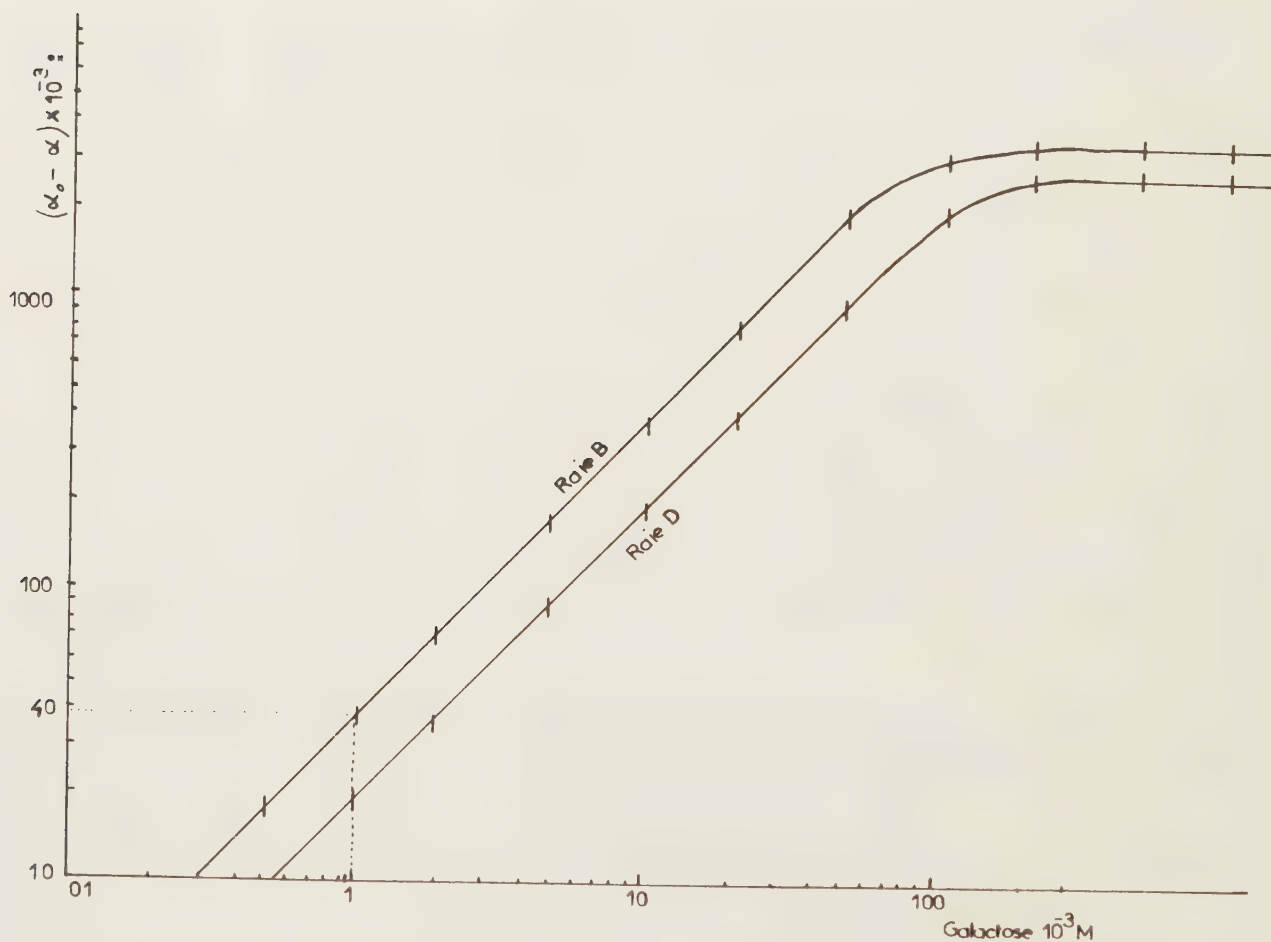


Figure 10 : 2ème courbe de Moore et Anderson permettant de déterminer le coefficient m du complexe GB.

$$x = \log b$$

$$y = \log (\alpha_0 - \alpha)$$

b = concentration en galactose 0,001 M (variable)

a = concentration en borate 0,1 M (C^{te})

Graduation logarithmique. Galactose et borate en solution dans NaHCO_3 0,5 M :

pH = 9,5 - Raie B = 436 nm - Raie D = 585 nm - Cuve 0,5 dm.

La pente à l'origine est 1, donc : $m = 1$.

3°) DETERMINATION DE $[\alpha_0] - [\alpha]$

Pour calculer la constante apparente de formation du complexe à partir des courbes de Moore et Anderson, il faut d'abord déterminer le coefficient $[\alpha_0] - [\alpha]$.

Ce nombre correspond en polarimétrie à $(\epsilon_0 - \epsilon)$ que nous avons rencontré en spectrophotométrie.

Nous écrivons $[\alpha_0] - [\alpha]$ car $m = n = 1$ dans le cas du complexe étudié.

L'équation 4 de Moore et Anderson devient :

$$\log (\alpha_0 - \alpha) = ([\alpha_0] - [\alpha]) (AB).$$

● 1ère Méthode -

Calcul de $([\alpha_0] - [\alpha])$ par les courbes de Moore et Anderson :

Comme on l'a montré en page 38, en fin de titrage le corps α est entièrement complexé.

$$y_{\max} = \log (\alpha_0 - \alpha) = \log ([\alpha_0] - [\alpha]) + \log \alpha = C^{\text{te}}$$

la hauteur du palier permet donc de déterminer $([\alpha_0] - [\alpha])$.

En réalité la valeur de $y_{\max}$ est souvent difficile à déterminer par cette méthode.

Sur la courbe 9 (galactose constant) le maximum est atteint pour $(\alpha_0 - \alpha) = 409 \cdot 10^{-3}$ (Raie B) ce qui donne : $([\alpha_0] - [\alpha]) = 40,9$ ($\alpha = 0,01$).

Sur la courbe 10 (borate constant) le maximum est plus délicat à déterminer : la valeur la plus probable est : $(\alpha_0 - \alpha) = 4.500 \cdot 10^{-3}$ (Raie B).
ce qui donne : $([\alpha_0] - [\alpha]) = 45$. ($\alpha = 0,1$).

● 2ème Méthode -

Calcul de $([\alpha_0] - [\alpha])$ par la méthode graphique

a) Détermination de $[\alpha_0]$ pour la raie B (Figure 11)

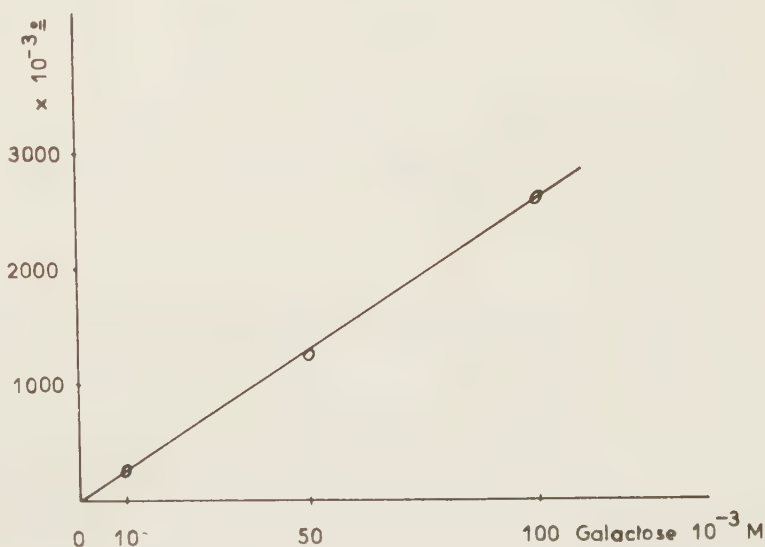
L'étude de la droite $\alpha = f(c)$ avec "c" concentration du galactose exprimée en moles, donne sans ambiguïté une pente de :

$$[\alpha_0]_B = + 26,20 \text{ en degrés par mole (ou } [\alpha_0]_B^{20} = 145^\circ \text{ en g/L)}$$

Fig. 11 : Détermination de $[\alpha_0]_B^{20}$ pour le galactose pur.

On trouve :

$$[\alpha_0]_B = \frac{2620}{100} \times \frac{10^{-3}}{10^{-3}} = 26,20$$



b) Détermination de $[\alpha]_B$ pour la raie B.

$[\alpha]_B$ est plus délicat à déterminer. Il faut tracer la droite $\alpha = [\alpha]_B$ (complexe) et mesurer la pente. Nous avons réalisé des solutions croissantes de galactose à de faibles concentrations dans du borate à saturation, on n'a ainsi que du galactose complexé qui dévie la lumière polarisée.

Deux droites ont été trouvées : *Figure 12*

– une valable entre 0 et 0,001 M du complexe dont la pente est :

$$[\alpha]_B = \frac{-22 \cdot 10^{-3}}{10^{-3}} = -22 \text{ en degrés par mole}$$

ce qui donne pour $([\alpha_o] - [\alpha]) = 26 - (-22) = 48$ et qui correspond au complexe entièrement hydrolysé.

– une deuxième, valable pour les valeurs supérieures à 0,001 M :

sa pente est : $[\alpha]_B = \frac{-115 \cdot 10^{-3}}{10 \cdot 10^{-3}} = -11,5 \text{ degrés/mole}$

On trouve donc : $([\alpha_o] - [\alpha]) = 26 - (-11,5) = 37,5$

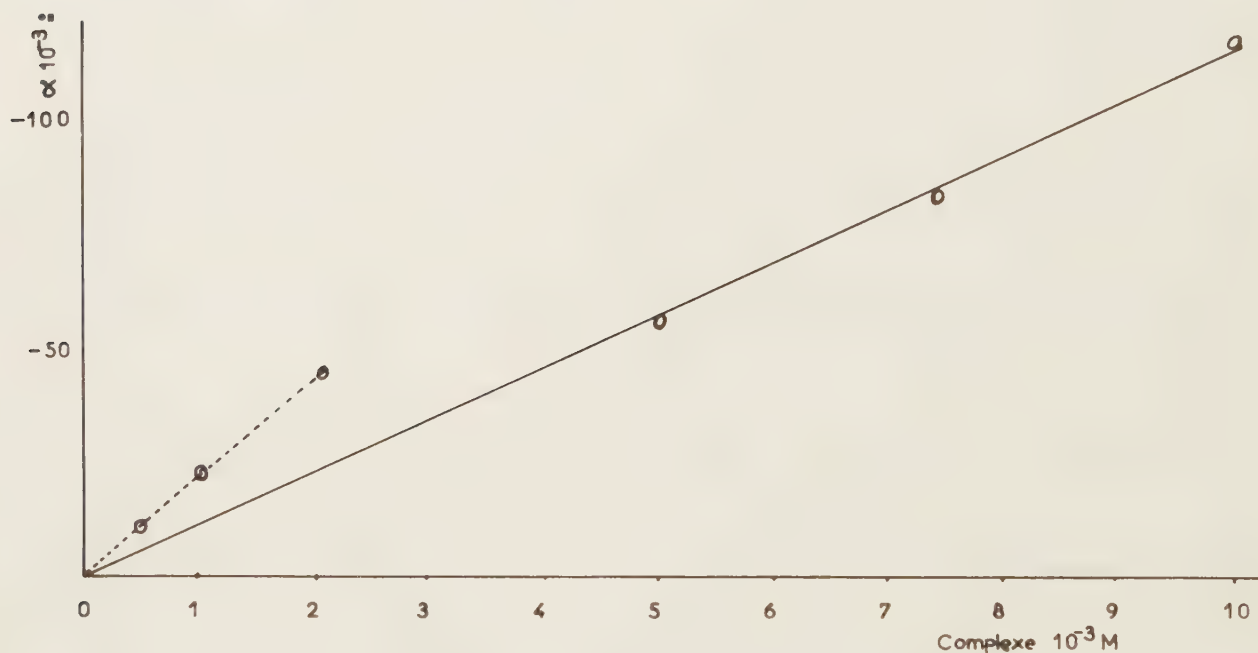


Figure 12 : Détermination de $[\alpha]_B^{20^\circ}$ pour le complexe galactose-borate.

On trouve 2 droites donc 2 valeurs de $[\alpha]_B$ suivant la concentration en complexe.

● **Conclusion :**

En comparant ces résultats calculés par ces 2 méthodes, ainsi que d'autres qui ne sont pas rapportées ici (courbes de Moore et Anderson avec $K_2 SO_4$ 0,1 M et 0,5 M), on arrive à la conclusion que la valeur de $([\alpha_o] - [\alpha])$ est comprise entre 37 à 48.

Nous pouvons alors calculer K.

Au cours des calculs qui vont suivre nous avons précisé la valeur de K constante "apparente" de formation du complexe entre galactose et borate. Nous n'avons pas tenu compte de l'équilibre : galactose α / galactose β comme nous aurions dû le faire si nous avions voulu préciser la valeur de K constante physique d'équilibre. Remarquons que la formule du complexe est indépendante de la valeur de K, puisque au cours des calculs K est éliminé.

4°) CALCUL DE K : constante apparente de formation du complexe

a) A partir de la 1ère droite de Moore et Anderson (galactose constant).

Nous avons calculé diverses valeurs approchées de K pour ($[\alpha_0] - [\alpha] = 40$)

TABLEAU IV

Concentration en borate total en millimoles	Valeur de K pour $[\alpha_0] - [\alpha] = 40$
0,7	117
1	130
2	144
5	180
10	200
20	255
30	330

Celles-ci reportées sur papier semi-log donnent une droite entre $x = 0,7$ et $x = 10$ (figure 13).

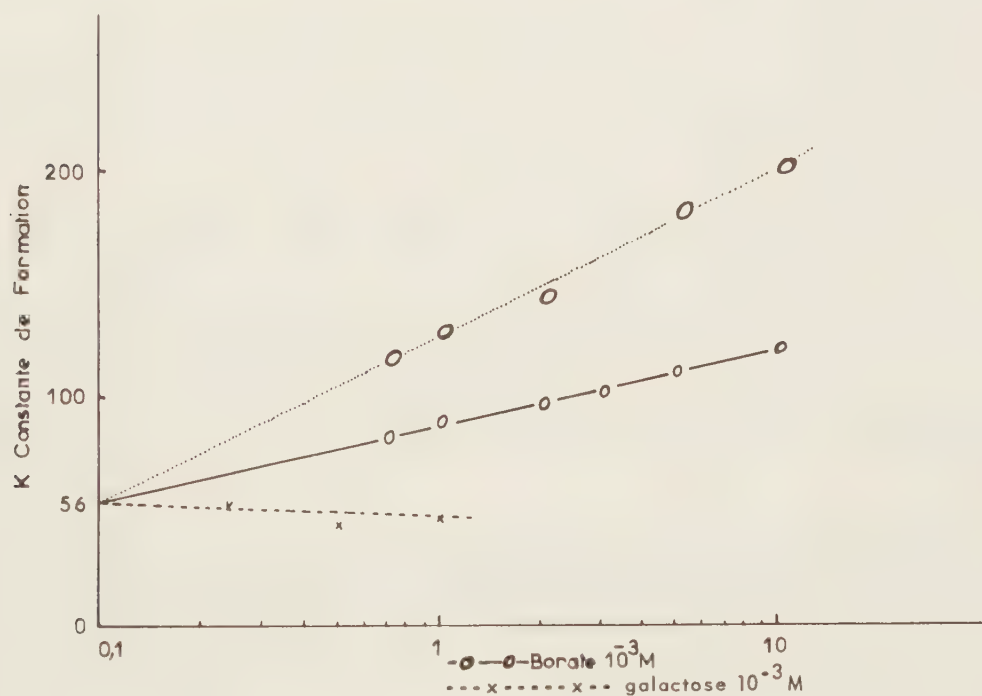


Figure 13 : Calcul de K constante apparente de formation du complexe
Graduation semi-logarithmique

- 1) à partir de la 1ère courbe de Moore et Anderson
 $[\alpha_0] - [\alpha] = 40$: trait pointillé : borate variable.
- 2) à partir des 2 courbes de Moore et Anderson $[\alpha_0] - [\alpha] = 48$
trait plein : borate variable
trait interrompu : galactose variable.

On trouve $K = 56 \pm 2$

En prolongeant cette droite jusqu'à $x = 0,1$, on trouve $K = 56$. A ce moment la force ionique $\mu = \frac{1}{2} \sum cZ^2$ est due uniquement au sel indifférent : $\text{Na HCO} = 0,5 \text{ M}$ (nous avons établi les courbes de Moore et Anderson pour cette concentration) où $\mu = \frac{1}{2} \times 0,5 (1 + 1 + 4) = 1,5$.

Si on effectue le même calcul pour les valeurs de $([\alpha\text{o}] - [\alpha])$ depuis 40 jusqu'à 48, on trouve les valeurs de K voisines.

b) A partir de la 2ème droite de Moore et Anderson (borate constant).

Nous avons fait le même calcul avec $([\alpha\text{o}] - [\alpha]) = 48$.

On a (Figure 13 page 43) sur papier semi-log, à partir de chacune des deux courbes de Moore et Anderson, deux droites qui convergent pour $x = 0,1$. On détermine ainsi la valeur de $K = 56$, semblable à celle trouvée pour $[\alpha\text{o}] - [\alpha] = 40$ ($K : 56$).

Ces résultats intéressants obtenus avec $[\alpha\text{o}] - [\alpha] = 48$ ne doit pas nous surprendre, car il correspond à la première valeur de ce coefficient calculé par voie graphique pour des concentrations très faibles du complexe comprises entre 0 et $0,001 \text{ M}$ (complexe entièrement dissocié). Il est donc normal de le retenir pour calculer K puisque la vraie valeur de celui-ci est obtenue pour une dilution infinie :

On a donc $K = 56 \pm 2$, pour $\mu = 1,5$.

Connaissant la valeur de K constante apparente de formation on calcule facilement la teneur en complexe : $0,28 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ et celle en galactose ou borate $0,72 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ pour une prise d'essai de galactose et de borate $0,01 \text{ M}$.

On voit que la proportion du complexe dans la solution est loin d'être négligeable et que sa présence peut influencer la réaction. Les deux chapitres qui vont suivre traiteront de ce problème.

IRRADIATION DE DIVERS GLUCIDES EN SOLUTION AQUEUSE A pH 9,5 AVEC ADJONCTION DE BORATE.

Avant d'étudier l'effet des rayonnements ionisants du cobalt 60 sur le galactose d'une façon approfondie, il fallait savoir si le phénomène : atténuation de la production d'aldéhyde malonique par la présence de borate était général et dans quelle mesure.

• Principe :

Pour ce faire nous avons irradié à la dose de $0,4 \text{ Mrad}$ une série de glucides en milieu tamponné à pH 9,5 à la concentration de $0,01 \text{ M}$.

Comme les sucres étaient à une concentration de $0,01 \text{ M}$, aux sucres boratés, il a été ajouté un centième de mole de borate par groupement ose, c'est-à-dire que les oses en C_3 , C_5 et C_6 en ont reçu $0,01$ mole, les diholosides : $0,02 \text{ M}$ et les triholosides $0,03 \text{ M}$. On fait l'hypothèse qu'une molécule de borate se complexe avec un groupement ose.

Le tableau suivant a été dressé résumant les résultats. Seul a été retenu la valeur de l'absorption à 535 nm après réaction à l'acide TB.

● Résultats :

TABLEAU V

Après réaction avec l'acide TB, valeur du rapport de l'absorption à 535 nm du sucre boraté à l'absorption du sucre pur. Dose 0,4 Mrad.

Glucide irradié 0,01 M	Nombre de 0,01 M de borate ajouté	Rapport	Position des oxhydryles et formule
Aldéhyde glycérique	1	1,44	
D. Xylose	1	0,40	
L. Arabinose	1	0,44	
D. Ribose	1	0,83	
D. Galactose	1	0,45	
D. Glucose	1	0,47	
D. Mannose	1	0,69	
D. Fructose	1	0,37	
Maltose	2	0,60	 2 glucoses (α et β) (réducteur)
Lactose	2	0,60	 1 glucose α et 1 galactose β (réducteur)
Cellobiose	2	0,70	 2 glucoses β (réducteur)
Saccharose	2	0,86	 1 glucose α et 1 fructose β (non réducteur)
Raffinose	3	0,93	 1 galactose α et 1 glucose α et 1 fructose β (non réducteur)

Du tableau V, il ressort que le rendement radiolytique en aldéhyde malonique des sucres boratés est inférieur à celui des sucres purs ($R < 1$) à l'exception de l'aldéhyde glycérique, mais ce n'est pas un ose vrai. Le phénomène est donc bien général, il est maximum pour le fructose et le xylose et minimum pour le raffinose.

● Effet de la position des oxhydryles :

Les valeurs différentes du rapport pour les divers glucides doivent être recherchées dans la position des oxhydryles : suivant que ceux-ci sont bloqués ou non par l'ion borate, la coupure de la molécule est plus ou moins difficile et la production d'aldéhyde malonique est diminuée ou augmentée.

Les complexes boratés des glucides prennent naissance facilement quand 2 oxhydryles sont en position vicinale (M. Ahond) (47) c'est-à-dire en cis par rapport au plan hexagonal ou pyranique et quand aucun autre radical ne vient gêner l'approche de la molécule de borate.

D'autre part, le complexe se forme de préférence à partir des oses α entre les deux OH vicinaux 1-2 c'est-à-dire entre l'OH du groupement semi acétal et celui de l'alcool secondaire voisin (H. Normant) (50). En solution il y a équilibre entre les formes α et β , quand le complexe prend naissance, il déplace l'équilibre en faveur de la configuration α .

Pour les polyholosides, l'oxhydryle pseudo-aldéhydique des oses constituants est fixé, ce qui modifie la production du complexe.

Si on applique ces remarques au tableau n° 4, on voit que pour le mannose et le ribose la formation du complexe est gênée par la présence de l'oxhydryle 3 ($R = 0,69$ et $0,83$). Au contraire, pour le xylose, l'arabinose, le galactose, le glucose, l'OH en position 2 étant dégagé le complexe doit se former aisément ($R = 0,40 - 0,47$).

Pour les polyholosides : maltose et lactose qui possèdent un α glucopyranose, la forme α facilite le phénomène ($R = 0,60$).

Pour le cellobiose, les oses constitutants sont sous la forme β , la formation du complexe est plus difficile ($R = 0,70$).

Pour le saccharose et le raffinose qui est un galacto-saccharose, les fonctions semi acétals sont bloquées, ces sucres ne sont pas réducteurs, la formation du complexe est faible et il y a peu de différence entre le glucide pur ou boraté ($R = 0,86$ et $0,93$).

On voit en conclusion qu'aux pH basiques, l'ion boraté modifie la production de l'aldéhyde malonique à partir des sucres irradiés et que la configuration spatiale des divers glucides rend compte d'une façon assez satisfaisante des différences observées.

IRRADIATION DES SOLUTIONS DE GALACTOSE - BORATE

Après ces expériences d'ordre général, une recherche approfondie a été entreprise sur le galactose en solution aqueuse soumis aux rayons γ du cobalt 60.

Cet ose a été choisi car il fournit les réactions les plus nettes. Sa formule est très voisine de celle du glucose et l'expérimentation a montré que tous les résultats obtenus avec le galactose peuvent être généralisés au glucose et aux principaux sucres à quelques détails près.

1°) ETUDE DE L'ALDEHYDE MALONIQUE PRODUIT

Divers protocoles étaient possibles. Après quelques essais les expérimentations suivantes ont été effectuées en dosant l'aldéhyde malonique produit.

Nous avons fait varier un à un les 3 paramètres principaux :

— la concentration en galactose : **Protocole N° 1**, le borate restant constant.

Ce qui doit toujours être présent à l'esprit lors de ce protocole ainsi que des suivants, c'est qu'en solution nous avons toujours un mélange de galactose libre, de borate libre et une fraction variable des deux sous forme de complexe. Par un artifice, il fallait irradier le complexe seul : **Protocole N° 2**. C'est pourquoi nous avons soumis aux rayonnements des concentrations variables de galactose dans des solutions saturées de borate ; la concentration de galactose étant toujours petite vis à vis de celle du borate (*Figure 14, page 48*).

— la concentration en borate : **Protocole N° 3**, le galactose ne variant pas (*Figure 15, page 49*)

— la dose d'irradiation : **Protocole N° 4**, Ce protocole permet de juger de l'effet d'une dose variable sur le mélange équimoléculaire borate-galactose. Ce rapport galactose/borate a été choisi car il correspond à la formation du complexe (*Figure 16, page 50*).

On a vu que l'adjonction de borate diminuait la production d'aldéhyde malonique quand on irradiait une viande ou un sucre. Il était intéressant, pour réfuter une objection, d'irradier des solutions d'aldéhyde malonique additionnées de borate à des concentrations croissantes **Protocole N° 5** car il était possible que ce soit le borate qui augmente la destruction de l'aldéhyde malonique par les rayons.

2°) ETUDE DU GALACTOSE RESTANT APRES IRRADIATION

Lors de chaque protocole, parallèlement à la mesure de l'aldéhyde malonique, nous avons mesuré le galactose détruit, soit par polarimétrie soit par mesure du pouvoir réducteur.

Il ne faut pas perdre de vue que l'irradiation du galactose donne naissance à des sucres qui possèdent eux aussi un pouvoir réducteur et devient le plan de la lumière polarisée. Certains même d'une façon importante et dans le sens opposé (d. arabinose $[\alpha]_D = -105^\circ$).

Il s'en suit que les résultats obtenus par les deux méthodes doivent être interprétés et complétés l'un par l'autre.

Si certains auteurs comme Mme Halter (41) ont employé le glucose, le galactose et d'autres sucres comme dosimètres avec mesure polarimétrique du sucre restant et s'en montrent satisfaits, c'est qu'il s'agissait de mesurer des doses toujours très importantes. Les résultats favorables montrés par le galactose sont dûs en partie, au fait que l'irradiation de cet ose donne naissance à de l'acide mu-cique inactif sur la lumière polarisée. Dans nos essais où les doses ont toujours été moyennes, une certaine prudence doit être observée.

Une autre difficulté provient du fait que nous irradiions des solutions de sucre boraté. Le borate de sodium modifie le pouvoir rotatoire spécifique du galactose en fonction de sa concentration. Ce dernier varie de $[\alpha]_D^{20} = +145^\circ$ pour le galactose pur à $-80^\circ 4$ pour le même boraté à saturation. Comme seul l'ose est détruit, le pourcentage de borate s'accroît dans une proportion inconnue et on ne peut pas calculer les concentrations de sucre à partir du pouvoir rotatoire.

Pour remédier à cette difficulté, nous avons sur une partie aliquote de l'échantillon à irradier, puis sur la même après irradiation, ajouté du borate de sodium sous forme de sel jusqu'à saturation. De cette façon, on travaille toujours sur du galactose-boraté au taux maximum ($[\alpha]_D^{20} = -80^\circ 4$).

3°) TECHNIQUES

Quel que soit le protocole choisi, le principe est toujours le même. A partir d'une solution de NaHCO_3 0,1 M préparer des liqueurs de galactose et de borate à une concentration double de celle désirée; en finale, pour chaque échantillon, les mélanger en volume égal.

Pour réaliser des doses variables, nous avons indifféremment fait varier le temps d'exposition ou la distance de la source, en préférant pourtant la première manière.

Pour l'étude de l'irradiation de l'aldéhyde malonique nous en avons produit comme il est expliqué au chapitre relatif au dosage de cet aldéhyde.

La mesure du pouvoir rotatoire a été effectuée exactement suivant les mêmes méthodes que celles employées lors de l'établissement des formules du complexe avec un polarimètre électronique Roussel-Jouan.

Avant la mesure on ajoute à chaque flacon 1 g. de borate de sodium. On agite de temps à autre et on filtre sur membrane Millipore 0,8 μ 24 heures après. Les solutions ne sont ni mises au frigorifique ni chauffées pour accélérer la dissolution, car on craint la formation ultérieure de cristaux mixtes de borate-galactose qui emprisonneraient une certaine quantité de sucre et qui seraient éliminés par la filtration.

La solubilité du borate étant faible, la concentration en galactose est peu modifiée.

Pour la mesure du pouvoir réducteur, il a été fait usage de l'appareil Technicon : Auto-analyseur. Sous réserve de passer avant chaque essai une gamme étalon assez étendue, on obtient une précision suffisante.

Le dosage du galactose, comme celui du glucose est fondé sur la réaction colorée ferro-ferri-cyanure qui est sensible et fidèle et qui, comme nous l'avons vérifié, ne semble pas être influencés par la teneur en borate. Nous avons ainsi mesuré des concentrations en galactose de 1 à 20 millimoles par litre.

4°) RESULTATS

a) Aldéhyde malonique produit

- **Protocole N° 1 : Irradiation du galactose en concentration croissante pour une concentration en borate 0,01 M.**

On obtient une courbe qui croît très rapidement au début, puis de plus en plus lentement : c'est une courbe de dilution. (Figure 14, page 48). Par rapport à celle du galactose pur, elle est légèrement en-dessous, c'est-à-dire, qu'à concentrations égales en sucre, la production d'aldéhyde malonique est inférieure pour le galactose.

● Protocole N° 2 : Irradiation du complexe galactose - borate

Nous avons obtenu en coordonnées cartésiennes une courbe de dilution qui s'incurve rapidement et en coordonnées semi-log, une droite, ce qui nous a permis de corriger certaines erreurs d'expérience.

Ces résultats reportés sur la figure 14 montrent que la production d'aldéhyde malonique est minimum quand le galactose est entièrement complexé.

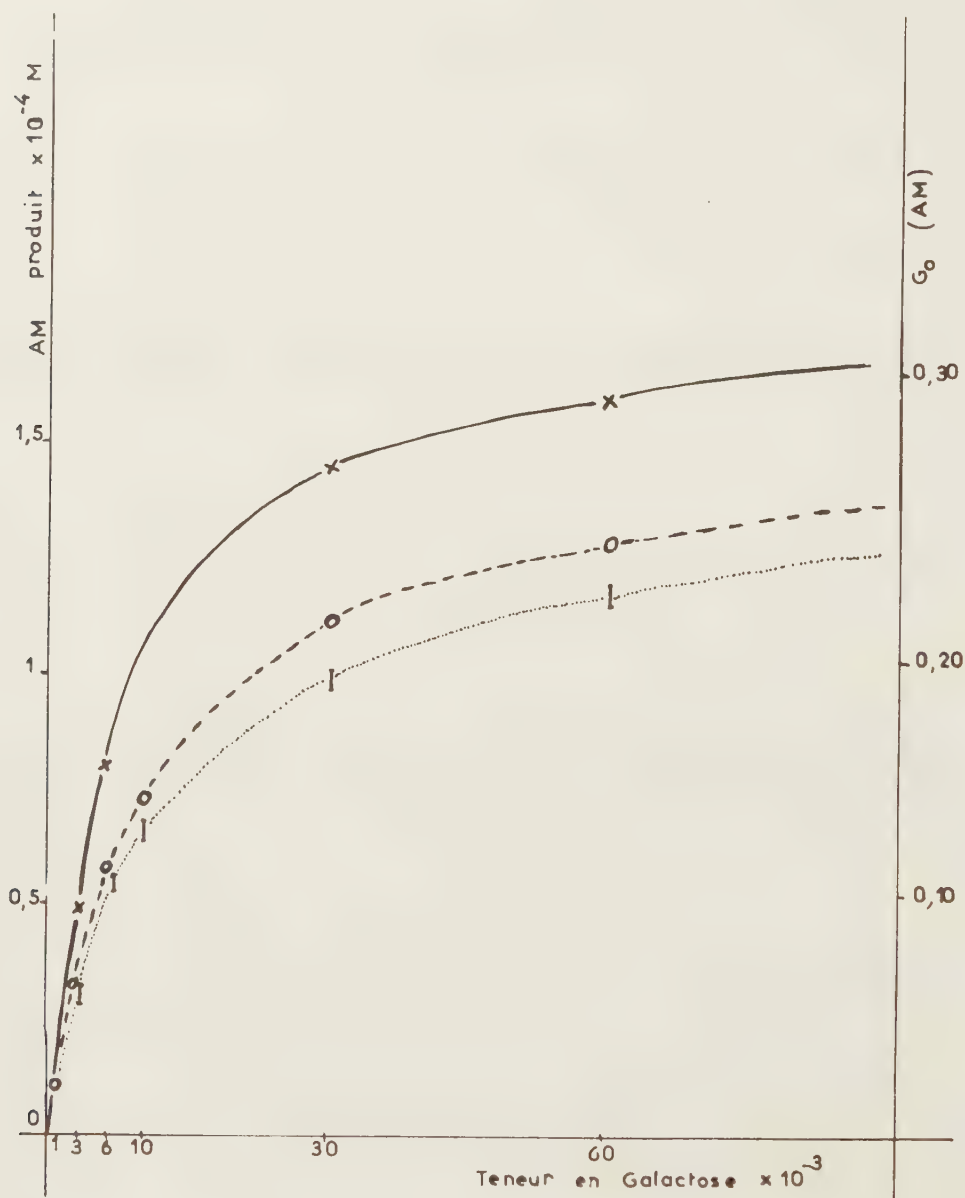


Figure 14 : Protocoles 1 et 2 : Production d'aldéhyde malonique après irradiation à la dose de 0,5 Mrad dans NaHCO_3 0,1 M à pH 9,5,

En fonction du galactose pur : trait plein

« du galactose boraté (0,01 M) : trait interrompu

« du complexe galactose boraté (1/1) : trait pointillé.

● **Protocole N° 3 : Irradiation d'une quantité constante de galactose à des concentrations croissantes de borate.**

Le galactose a une concentration fixe de 0,01 M.

La courbe a une allure toute différente de la précédente, on observe une chute rapide de la production d'aldéhyde malonique jusqu'à 10 millimoles de borate, puis ensuite le phénomène se stabilise (*Figure 15*).

Ces expériences ont été effectuées à la dose de 0,5 Mrad. Des résultats identiques ont été obtenus pour ces 2 protocoles en irradiant à 3 Mrad ($18,75 \cdot 10^{19}$ eV/ml).

Ce résultat est en accord avec les précédents : l'excès de borate ne joue plus aucun rôle quand le galactose est entièrement sous forme de complexe.

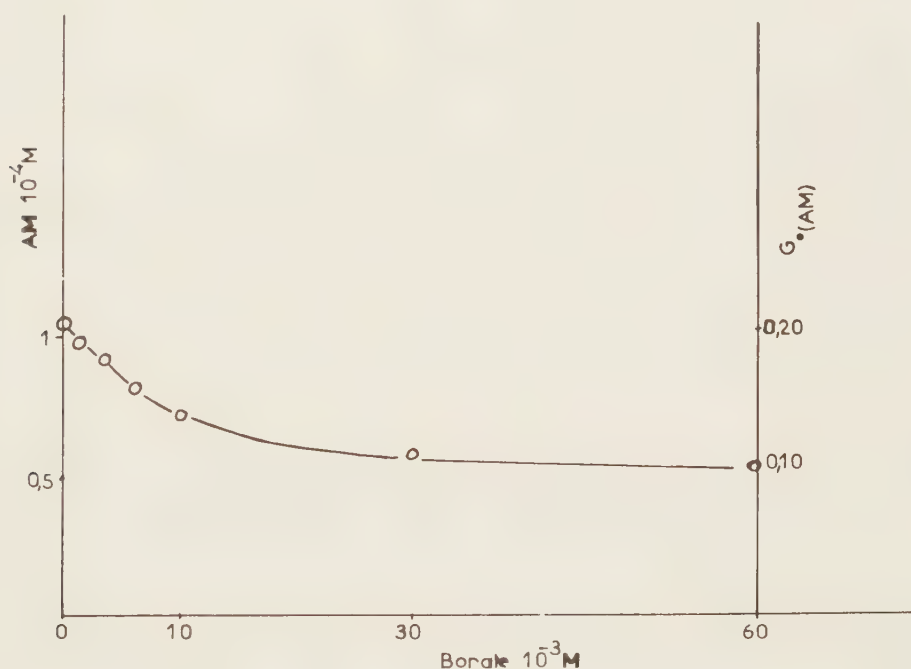


Figure 15 : Protocole N° 3 : Production d'aldéhyde malonique en fonction de la teneur en borate pour une concentration constante de galactose : 0,01 M.

Dose d'irradiation 0,5 Mrad.

Tampon Na HCO_3 0,1 M pH 9,5.

L'action du borate est nette jusqu'à 10 millimoles où le phénomène se stabilise. Tout le galactose est alors complexé.

● **Protocole N° 4 : Irradiation à dose variable**

L'étude de ce 4ème facteur montre que la courbe relative au galactose pur s'élève plus vite que celle effectuée à partir du mélange équimoléculaire galactose-borate. Les deux courbes se terminent chacune par un plateau débutant à la dose de 3 Mrad mais les maximums sont atteints à des niveaux différents (*voir figure 16, page 50*).

Ceci n'est pas pour nous surprendre et confirme nos deux expériences précédentes (Figure 16).

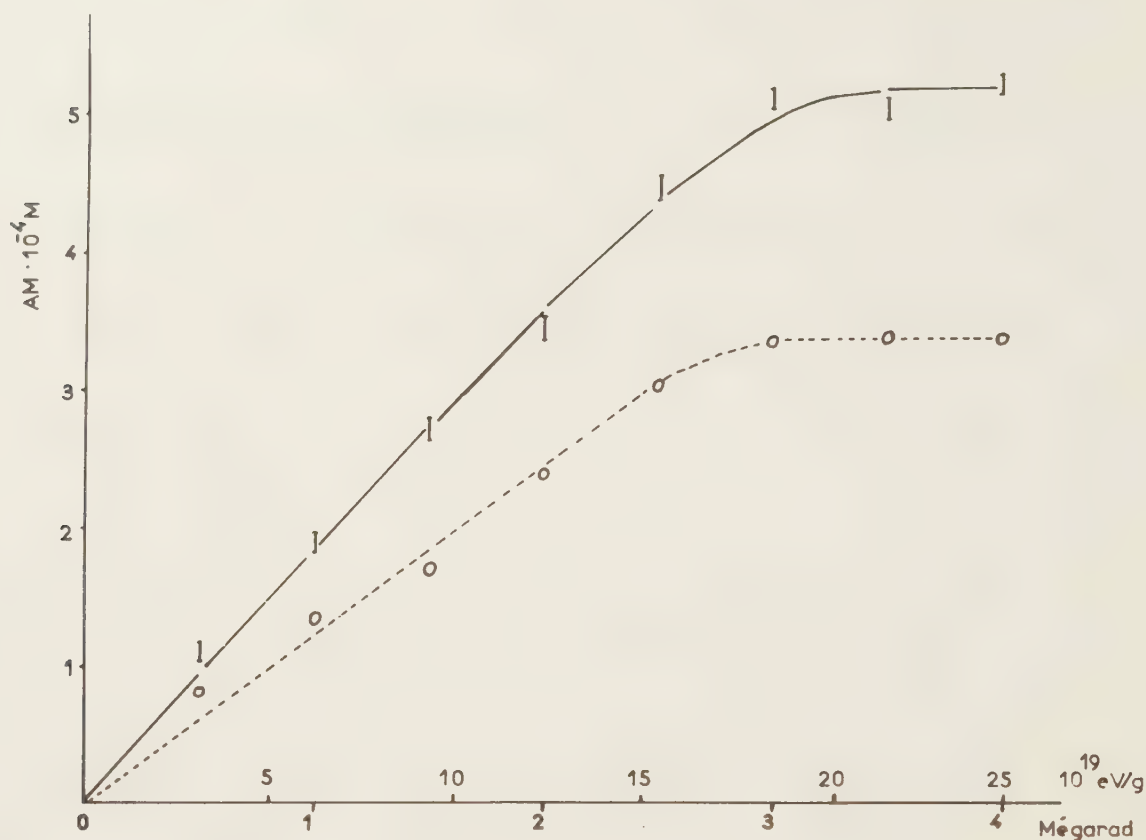


Figure 16 : Protocole N° 4 : Production d'aldéhyde malonique en fonction de la dose d'irradiation exprimée en Mrad et en eV/g pour le galactose pur 0,01 M : trait plein et le galactose boraté (1/1)(0,01 M) : trait interrompu. Tampon Na HCO₃ 0,1 M, pH 9,5.

● Protocole N° 5 : Irradiation de l'aldéhyde malonique

Nous avons irradié des solutions d'aldéhyde malonique pur à des concentrations différentes et pour une même concentration à des taux de borate croissante.

Nous avons observé que l'irradiation détruit une fraction de l'aldéhyde malonique (environ 50%) mais ce taux n'est pas influencé par la concentration de borate. Si un sucre boraté produit moins d'aldéhyde malonique qu'un sucre pur, ceci n'est donc pas dû à une sensibilité accrue de l'aldéhyde malonique aux rayonnements.

b) Galactose détruit

Pour chaque protocole le galactose restant après irradiation a été mesuré par polarimétrie ou par étude du pouvoir réducteur. Par différence, le galactose détruit a été évalué.

A la dose d'irradiation de 0,5 Mégarad, les quantités de galactose détruites sont extrêmement faibles. Alors que le spectrophotomètre est sensible à 10⁻⁵ moles d'aldéhyde malonique, le polarimètre électronique ne dévie qu'à partir de 0,001 Mole de galactose et l'auto-analyseur Technicon a une sensibilité inférieure.

Ainsi les résultats sont moins probants vu les faibles différences observées, mais on retrouve pour chaque protocole les mêmes conclusions que celles obtenues par mesure de l'aldéhyde malonique. A titre d'exemple, on trouvera reproduit le graphique représentant le galactose détruit en fonction de la dose d'irradiation correspondant au protocole N° 4 (mesure du pouvoir réducteur effectuée à l'auto-analyseur) (Figure 17).

La similitude des courbes obtenues par mesure de l'aldéhyde malonique ou du galactose montre que la production de l'aldéhyde va de pair avec la destruction du galactose.

Notons que l'aldéhyde malonique présent dans les solutions irradiées est trop peu concentré pour influencer le pouvoir rotatoire ou réducteur des oses.

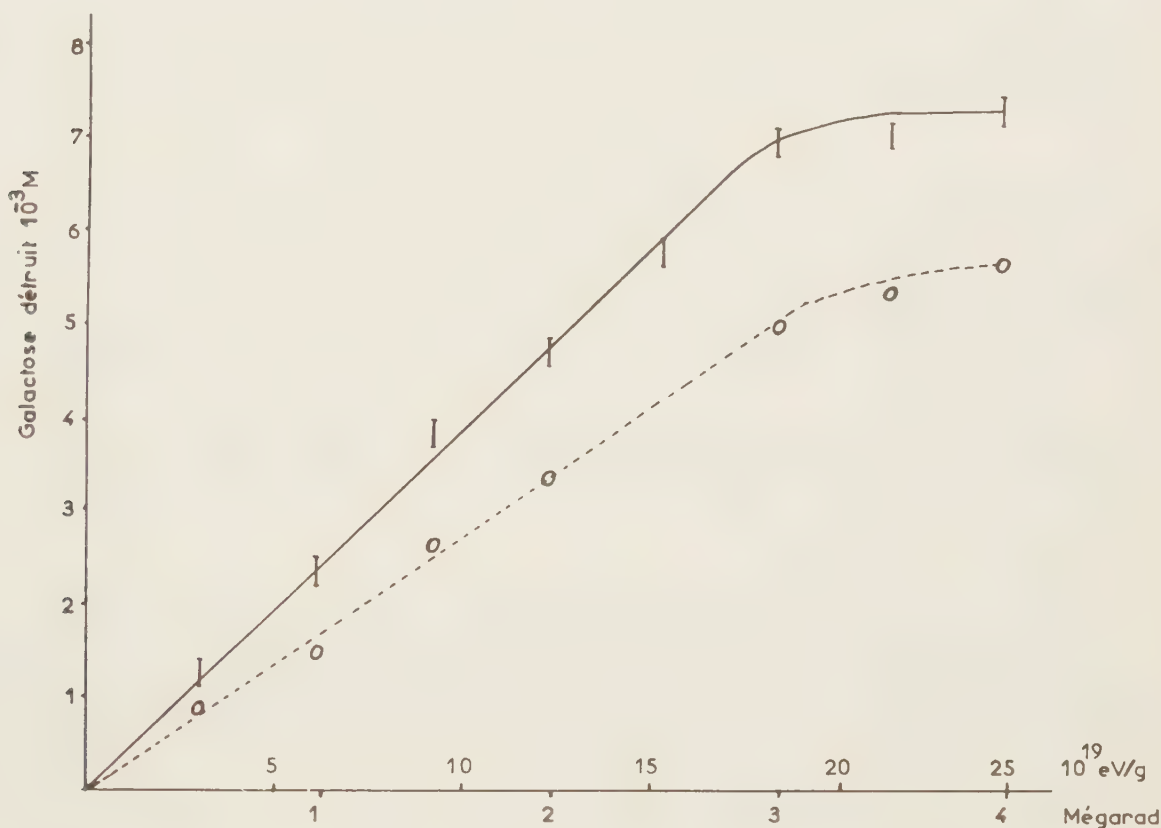


Figure 17 : Protocole N° 4 : Galactose détruit mesuré par étude du pouvoir réducteur en fonction de la dose d'irradiation pour le galactose pur 0,01 M : trait plein et le galactose boraté (1/1) 0,01 M : trait interrompu. Tampon Na HCO₃, pH 9,5. Commentaire dans le texte.

5°) CALCUL DE G : Rendement radiolytique initial

On appelle rendement radiolytique le nombre de molécules (élémentaires) (1) créées ou détruites pour une énergie de 100 eV. Le rendement initial G_0 est la pente de la tangente à l'origine de la courbe des G en fonction des doses croissantes.

Si on considère les résultats du protocole N° 4 (Figure 16, page 50) irradiation à des doses variables de galactose pur ou boraté, on voit que la courbe débute par une droite jusqu'à la dose de 2,5 Mrad (15,625.10¹⁹ eV/ml). On peut donc calculer $G_0(AM)$ par la pente de cette droite.

(1) Nombre de molécules "élémentaires" pour les distinguer des "molécules gramme"; N : Nombre d'Avogadro reliant ces deux grandeurs.

Le même calcul peut être appliqué à la figure 17 (page 50) qui permet de calculer G_0 (galactose détruit).

La dose de 2 Mrad a été choisie comme référence.

$$1 \text{ rad} : 100 \text{ erg/g} = 6,25 \cdot 10^{13} \text{ eV/g.}$$

$$\begin{aligned} \text{pour } 2 \text{ Mrad} : 2 \cdot 10^6 \cdot 6,25 \cdot 10^{13} &= 12,50 \cdot 10^{19} \text{ eV/g} \\ &= 12,50 \cdot 10^{17} \times 100 \text{ eV/g} \end{aligned}$$

a) Aldéhyde malonique $\longrightarrow$ galactose pur (Figure 16, page 50)

Concentration en moles d'aldéhyde malonique créées : $3,72 \cdot 10^{-4}$ d'après la fig. 16.

$$\text{Nombre de molécules présentes : Moles} \times N = 3,72 \cdot 10^{-4} \times 6,02 \cdot 10^{23}$$

ceci pour 1000 ml. soit pour 1 ml ou 1 g. : $22,40 \cdot 10^{-16}$ puisque le rad s'applique à 1 g.

$$\text{d'où : } G_{(AM)} = \frac{22,40}{12,50} \times \frac{10^{16}}{10^{17}} = 0,18$$

$\longrightarrow$ galactose boraté

Pour la même dose de 2 Mrad la concentration molaire de l'aldéhyde malonique est de $2,48 \cdot 10^{-4} \text{ M}$.
Un calcul similaire donne : $G_{(AM)} = 0,12$.

Le rapport : $G_{(AM)}$ produit par le galactose boraté à celui produit par le galactose pur est de : 0,67.

Le rendement radiolytique est pour le palier de la courbe de 0,12 (sucre pur) et 0,10 (sucre boraté).

b) Galactose détruit par l'irradiation

Nous avons alors calculé le galactose détruit par cette même dose (Fig. 17, page 51).

Les résultats trouvés en polarimétrie : G_0 du galactose pur 1,64 ; G_0 du galactose boraté équimoléculaire 1,20, nous semblent erronés pour les raisons exposées au chapitre précédent : création de corps à pouvoir rotatoire élevé, souvent même lévogyres et variation du pouvoir rotatoire spécifique en fonction du pourcentage en borate.

Nous avons alors employé la mesure du pouvoir réducteur. A une dose de 2 Mrad : pour le galactose pur, il y a $0,48 \cdot 10^{-2}$ molécules de détruites par litre, ceci nous donne :

$$G_{(G)} = 2,30$$

Pour le galactose additionné d'une égale quantité de borate, il n'y a plus que $0,33 \cdot 10^{-2}$ molécules de détruites par litre, soit :

$$G_{(GB)} = 1,59$$

Le rapport : galactose boraté détruit au galactose pur détruit est de 0,68, rapport très voisin de celui trouvé pour l'aldéhyde malonique. On voit que l'aldéhyde malonique est un témoin fidèle de la destruction du galactose.

Pour le calcul du G_0 du galactose 0,01 M à la dose de 2 Mrad, il faut noter l'excellente concordance avec les résultats publiés par Kochetkov et Collaborateurs (26) dont nous avons eu ultérieurement connaissance.

Les résultats des autres protocoles qui ont tous été effectués à la dose de 0,5 Mrad ($3,125 \cdot 10^{19} \text{ eV/ml}$) sont donnés en fonction de G_0 puisque, comme le montrent les figures 14 et 15, pages 48 et 49 G_0 se confond avec G entre 0 et 2,5 Mrad.

CONCLUSIONS

L'étude des composés de dégradation qui prennent naissance dans les viandes soumises aux rayonnements ionisants en vue de leur conservation est un problème extrêmement complexe, aussi est-ce uniquement les glucides irradiés en solution tamponnée à pH 9,5 qui ont été étudiés, les lipides et les protides étant réservés pour un examen ultérieur.

Il est apparu dès le début de ces recherches que l'aldéhyde malonique est un témoin fidèle de l'action des radiations sur les glucides. Ce composé est particulièrement instable et extrêmement réactionnel; pour le doser, la meilleure technique est une méthode spectrophotométrique à 535 nm après réaction à l'acide thiobarbiturique. L'absorption en ultra-violet à 268 nm n'est pas spécifique de cet aldéhyde; plus intéressant est le déplacement du pic d'absorption de 268 nm pour pH 9,5 à 245 nm quand la réaction de la solution devient acide.

Les conditions d'irradiation se sont montrées importantes car susceptibles de modifier profondément les phénomènes observés : le débit de dose ou intensité du rayonnement ainsi que la teneur en oxygène des solutions joue un grand rôle, la qualité du verre ou du quartz des flacons aussi, mais c'est le pH de la solution qui est le facteur primordial : une modification pendant l'irradiation risque d'inverser le phénomène, d'où la difficulté du choix d'un composé tampon qui stabilise pendant l'irradiation le pH de la solution à 9,5 valeur choisie lors de cette étude. C'est finalement le carbonate acide de sodium additionné de soude qui a été retenu.

Une deuxième conclusion de cette étude est la présence de l'aldéhyde malonique dans les solutions de sucres irradiés à pH 9,5. Divers auteurs avaient montré l'existence de ce composé dans les graisses irradiées ou oxydées; au cours de ce travail sa présence a été établie dans les glucides irradiés en solution aux pH basiques ou neutres. Aux pH acides il ne se forme plus : c'est là un autre enseignement de cette étude.

D'autre part divers composés avaient été avancés pour expliquer l'absorption intense que présentent les sucres irradiés à 268 nm : acide ascorbique, réductone, glyoxal, dihydroxyacétone, glycéraldéhyde. Grâce à la réaction à l'acide thiobarbiturique et par un calcul simple à partir des coefficients d'absorption moléculaire, il a été établi, que l'aldéhyde malonique est responsable pour 70 % de l'absorption en ultra-violet des glucides irradiés. Pondéralement, il est négligeable, mais c'est l'importance de son coefficient d'absorption moléculaire (ϵ 268 nm : $3.10 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) qui explique que l'action de ce composé masque celle de tous les autres corps décelés dans les sucres irradiés.

Parallèlement à ces recherches, il a été constaté en additionnant les solutions de glucides avant irradiation de borate de sodium que tous les sucres irradiés mono, di et poly saccharides en présence de ce sel ne donnaient naissance qu'à des quantités d'aldéhyde malonique inférieures à celles correspondantes au même sucre irradié pur. Le phénomène est important pour le fructose et le xylose, il est très net pour les hexoses et assez faible pour les diholosides. C'est la position des oxhydryles bloqués par le borate qui explique les divers résultats observés : la coupure de la molécule de l'ose en deux composés trihydroxyliques est gênée plus ou moins par la présence de l'ion borate.

A partir du galactose, une étude plus approfondie a pu être menée. En faisant varier divers facteurs, il a été possible de préciser l'action de l'ion borate. Il y a formation d'un complexe galactose borate de formule 1/1 avec un coefficient K de formation égal à 56. L'ion borate d'autre part ne modifie pas la radiosensibilité de l'aldéhyde malonique.

Par contre; il a été montré que pour une même dose d'irradiation la concentration croissante en borate diminue la production d'aldéhyde malonique et augmente la proportion de sucre inattaqué.

L'effet est maximum quand tout le sucre est sous forme de complexe boraté : le rendement radiolytique G correspondant à la production d'aldéhyde malonique est alors minimum.

Si on irradie à des doses croissantes des solutions de galactose pur et de galactose boraté le phénomène est encore vérifié. La courbe de la production de l'aldéhyde malonique du galactose pur en fonction de la dose d'irradiation est supérieure à celle du galactose boraté.

*

*

*

De toute cette étude, il ressort donc que la nature des produits de dégradation des glucides dépend du pH des solutions ; en particulier aux pH basiques ou neutres, il y a production d'aldéhyde malonique. C'est ce composé qui est alors responsable de l'absorption importante que présentent les sucres irradiés. Le phénomène est fortement atténué par la présence de borate de sodium, l'effet est minimum quand borate et galactose sont équimoléculaires ce qui correspond à la formule du complexe.

De ces recherches de caractère fondamental, nous pensons que des applications pratiques pourront être dégagées dans le domaine de l'irradiation des aliments en vue de leur conservation : nature des produits de dégradation après action des rayonnements ionisants et identification des produits radio-conservés.

*

*

*

BIBLIOGRAPHIE

Cette thèse a fait l'objet de deux publications aux Comptes Rendus de l'Académie des Sciences.

Chimie Biologique : J. MORRE et S. MORAZZANI-PELLETIER. L'aldéhyde malonique est produit par irradiation gamma du galactose à pH 9,5. Modification du phénomène par le borate de sodium. (effet de protection par formation de complexes).

● Série C, t.262, p.1729, 13 Juin 1966

Biochimie : J. MORRE. L'absorption en Ultra-Violet que présentent les glucides irradiés en solution tamponnée à pH 9,5 est due à l'aldéhyde malonique.

● Série D, t.265, p.462, 31 Juillet 1967

-
- 1 - G. Thieulin, J. Morre et L. Richou, *Ann. Alim. et Nut.* **27**, 6 B 385, 1963.
 - 2 - G. Mocquot : *Symposium of food irradiation OCDE, Paris Nov. 1963.*
 - 3 - L. Claisen : *Chem. Ber.* **36** - 3664, 1903.
 - 4 - R. Huttel : *Chem. Ber.* **74 B** - 1825, 1941.
 - 5 - R.O. Sinnhuber et T.C. Yu : *Food Technology* **12**, 9, 1958.
 - 6 - F. Mashio et J. Kimura : *Nippon Kagaku Zasshi (J. of the Chem. Soc. of Japan, pur Chem. Soc.)* **81**, 434, 1960.
 - 7 - F. Mashio et J. Kimura; *Yuki Gogai Kagaku Kyokai Shi (Organic Synthetic Chem. of Japan)* **19**, 9, 247, 1961.
 - 8 - T.V. Protopopova et A.P. Skoldinov :
Zhur. Obs. Khim, **28**, 240, 1958
J. of General Chem. of U. SSR, **28**, 241, 1958
Chem. Abs. **52**, 12. 754. 6, 1958.
 - 9 - R.W. Price et A. Moos, *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 207, 1945.
 - 10 - Z. Arnold et F. Sörm, *Chem. Listy* **51**, 1082, 1957 - *Chem. Abs.* **51**, 13761 C, 1957.
 - 11 - P. Fleury, J. Courtois, W. Hamman et L. Ledizet, *Bull. Soc. Chim. de France* 1290, 1310, 1955.
 - 12 - J. Bougault, *J. Pharm. et Chim.* **16**, 97, 1917.
 - 13 - E. Pauchard, *J. Pharm. et Chim.* **3**, 248, 1926.
 - 14 - H. Schmidt : *Fette Seifen Anstrichmittel*, **61**, 127, 881, 1959.
 - 15 - N.L. Smith, I.J. Tinsley et E.C. Bubl : *Food, Technology*, **14**, 317, 1960.
 - 16 - J.H. Wertheim et B.E. Proctor : *J. Dairy Sci*, **39**, 391, 1956.
 - 17 - Kreis, *Chem. Z.* **26**, 897, 1902.
 - 18 - G. Merritt. Jr *Symposium of Food Irradiation Karlsruhe*, 6 Juin 1966, IAEA, ed. Vienne p. 197, 1966
 - 19 - S. Patton, M. Keeney et G.W. Kurt. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **28**, 291, 1951.
 - 20 - Russel, R.O. Sinnhuber, T.C. Yu et T.C. Chang Yu, *Food Research*, **23**, 626, 1958.

- 21 - F. Percheron, *Bull. Soc. Chim. de France* 256, 1965.
- 22 - P. Mesnard et G. Devaux, *Chim. Anal.* 44, 287, 1962.
- 23 - N.L. Smith, I.J. Tinsley et E.C. Publ. Biochem. and Bio Physical Research Communication 2, N° 3, 169, 1960.
- 24 - E. Sawicky, T.R. Hausser, W. Stanley et W. Ebert : *Analy. Chem.* 33, 1, 193, 1961.
- 25 - J.R. Puig, J. Laizier, M. Lorin et R. Laroche : *Doc. Cen. Saclay, DPC/PCA/GAR, 40/R/J/L/54* 18 Fév. 1967, et J. R. Puig, *Bull. Inf. Scient. Tech. CEN. Saclay*, 98,53 1965.
- 26 - N.K. Kochetkov, L. I. Kudryashov, S.M. Yarovaya et E.I. Bortsova :
Zhurnal Obs. Khim. 35, N° 2, 268, 1965
J. of. General Chem. of USSR, 35, 270, 1965.
- 27 - G.O. Philips, G. J. Moody et G. L. Mattok :
 Part I : *J. Chem. Soc.* 3522, 1958
 Part II : « « 3534, 1958
 Part III et IV : « « 754, 1960
 G.O. Philips et W. J. Criddle :
 Part VI : « « 3404, 1960.
- 28 - P. Job : *Ann. Chimie* 9, 10, 113, 1928.
 « « « 6, 11, 97, 1936.
- 29 - H. Borsock et K.V. Thimann : *J. Biol. Chem.* 98, 671, 1932.
- 30 - L. Klotz, J. Faller et J. M. Urquart : *J. Phys. and Colloid. Chem.* 54, 18, 1950.
- 31 - M. Quintin : *J. Chimie Physique*, 47, 898, 1950.
- 32 - F. Bouriou et E. Rouyer : *Ann. Chimie*, 10, 182, 1928.
- 33 - J. Curchod : *J. Chim. Phys.* 125, 1956.
- 34 - P. Hagenmuller; *C. R.* 230, 2190, 1950.
- 35 - M. Legrand, M. Grosjean et A. Lacam : *Bull. Chim. de France* 1495, 1959 et 457, 1960.
- 36 - G. Bruhat et A. Kastler : *Optique* 5 édit. Masson ed. 557, 1959.
- 37 - R. L. Moore et R. C. Anderson : *J. am. Chem. Soc.* 67, 167, 1945.
- 38 - H. E. Bent et G. L. French : *J. Am. Chem. Soc.* 63, 568, 1941.
- 39 - T. C. Laurent et C. Tavard : *J. Am. Chem. Soc.* 78, 1875, 1956.
- 40 - C. T. Bothner-By et E. A. Balaz : *J. Org. Chem.* 30, 254, 1965.
- 41 - M.E. Halter; *Thèse fac. Sci. Chimie Nucléaire Strasbourg-Cronenbourg*, 1964.
- 42 - G. M. Rinney et O. Temmer : *J. Am. Chem. Soc.* 70, 3586, 1948.
- 43 - K. Taufel et R. Zimmermann : *Fette Seifen Anstrichmittel*, 63, N° 3, 226, 1961.
- 44 - Von H. Streuli, *Mit Gerbielte Lebensmittel Untersuch u. Hyg.* 47, 221, 1956.
- 45 - J. Sauders et J.R.K. May : *Chem. and Ind.* 1955, 1963.
- 46 - F. Percheron : *Bull. Soc. Chim. Biol.* 44, 1161, 1962.
- 47 - M. Ahond : *Thèse 3ème Cycle, Sorbonne, Labo Electro-Chimie, Paris* 1963.

- 48 - Ch. Ferradini : *Action Chimique des Rayonnements, Cours 3ème Cycle, Sorbonne, 1967.*
- 49 - A. Lafontaine et J. Kuprianoff : *OCDE, AEEN, Doc. SEN/IR 65. 5. 1965.*
- 50 - H. Normant : *Chimie Organique, Masson édit. 298, Paris 1963.*
- 51 - P. Pascal : *Nouveau traité Chimie Minérale, Masson édit. VI, 215, Paris 1961.*
- 52 - N. Bacon, W.O. George et B.H. Stringer : *Chemistry and Industry, July 31, 1377, 1965.*
-

Travail effectué au Laboratoire de Radiobiologie du Service Vétérinaire :
39, Rue de Dantzig - PARIS XV

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

" Action des radiations ionisantes sur les cellules embryonnaires."

Vu et approuvé :

Paris, le 6 Novembre 1967

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc. ZAMANSKY

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie
de Paris,

Jean ROCHE

